

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2000 年 12 月 21 日 (21.12.2000)

PCT

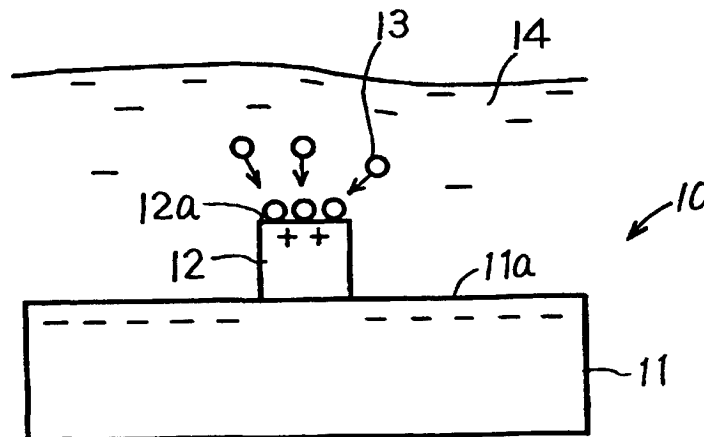
(10) 国際公開番号
WO 00/77280 A1

- (51) 国際特許分類: C30B 29/54 LTD.) [JP/JP]; 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/03820
- (22) 国際出願日: 2000 年 6 月 12 日 (12.06.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願平11/167109 1999 年 6 月 14 日 (14.06.1999) JP
特願平11/170796 1999 年 6 月 17 日 (17.06.1999) JP
特願2000/49 2000 年 1 月 4 日 (04.01.2000) JP
特願2000/22640 2000 年 1 月 31 日 (31.01.2000) JP
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 秋岡幸司 (AKIOKA, Koji) [JP/JP]; 〒660-0891 兵庫県尼崎市扶桑町1番8号 住友金属工業株式会社 エレクトロニクス技術研究所内 Hyogo (JP). 三城 明 (SANJOH, Akira) [JP/JP]; 〒631-0006 奈良県奈良市西登美ヶ丘1-16-5 Nara (JP).
- (74) 代理人: 深見久郎, 外 (FUKAMI, Hisao et al.); 〒530-0054 大阪府大阪市北区南森町2丁目1番29号 住友銀行南森町ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): CA, US.
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 住友金属工業株式会社 (SUMITOMO METAL INDUSTRIES, (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

[続葉有]

(54) Title: APPARATUS AND METHOD FOR SEPARATING ORGANIC MOLECULES AND METHOD FOR FORMING CRYSTAL OF ORGANIC MOLECULES

(54) 発明の名称: 有機分子の分離装置および分離方法ならびに有機分子の結晶作製方法



(57) Abstract: An apparatus (10) for growing a crystal having a solid surface (11a) comprising a silicon oxide and a solid surface (12a) comprising an alumina, wherein the solid surface (11a) and the solid surface (12a) are arranged so that both of them contacts with a solution (14) containing a protein to be crystallized. The solid surface (11a) and the solid surface (12a) have surface potentials or zeta potentials which are different from each other upon the contact with the solution (14). In an embodiment, the solid surface (11a) has a negative charge and the solid surface (12a) has a positive charge and thus a negatively charged protein (13) is selectively adsorbed by the positively charged solid surface (12a), which results in the growth of the crystal of the protein (13) on the solid surface (12a). The apparatus is useful for the crystallization of a biopolymer such as a protein.

[続葉有]



添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

タンパク質等の生体高分子の結晶化に有用な装置および方法が提供される。結晶成長用装置(10)は、シリコン酸化物からなる固体表面(11a)およびアルミナからなる固体表面(12a)を有する。この装置(10)において、固体表面(11a)および固体表面(12a)は、結晶化すべきタンパク質(13)を含む溶液(14)に、同時に接触するように配置されている。固体表面(11a)および固体表面(12a)は、溶液(14)と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有する。たとえば、固体表面(11a)は負に帯電し、固体表面(12a)は正に帯電する。したがって、溶液(14)中で負に帯電したタンパク質(13)は、正に帯電する固体表面(12a)に選択的に吸着される。かくして、固体表面(12a)でタンパク質(13)の結晶が成長する。

明 細 書

有機分子の分離装置および分離方法ならびに有機分子の結晶作製方法

5 技術分野

本発明は、有機分子等の溶液中で帯電する物質の分離装置および分離方法に関し、特に、タンパク質、酵素等の種々の生体高分子、およびそれらの複合体を含む有機高分子の結晶化に適用される分離装置および分離方法に関する。さらに本発明は、高分子の結晶を調製するための装置、方法および該装置用キットに関し、
10 特に、タンパク質、酵素等の種々の生体高分子、およびそれらの複合体を含む高分子の結晶化に適用される装置、方法およびキットに関する。

背景技術

タンパク質等の生体高分子の結晶化は、通常は無機塩等の低分子量化合物の場合と同様、高分子を含む水または非水溶液から溶媒を奪う処理を施すことにより、
15 過飽和状態にして、結晶を成長させるのが基本となっている。このための代表的な方法として、バッチ法、透析法および蒸気拡散法があり、これらは、試料の種類、量、性質等によって使い分けられている。

図 1 A および図 1 B は、蒸気拡散法により種々の条件下で結晶化を試みるための装置を示す。装置 1 は多数のウェル 2 を有し、そこにおいて、各ウェル 2 および各プレート 3 により、結晶化のためのセル 4 が構成される。各ウェル 2 には、沈殿剤 5 が保持され、一方、ウェル 2 の開口をふさぐ各プレート 3 上では結晶化すべき生体高分子を含む母液 6 が垂下される。この装置では、沈殿剤 5 および母液 6 中の揮発成分の蒸発によって、平衡が成立する。
20

図 2 A および図 2 B は、蒸気拡散法に含まれるハンギングドロップ法およびシッティングドロップ法を概略的に示す。図 2 A に示すハンギングドロップ法では、沈殿剤 2 2 2 を収容する密閉容器 2 2 0 内において、結晶化すべき生体高分子を含む母液 2 2 1 が垂下される。図 2 B に示すシッティングドロップ法では、密閉容器 2 3 0 内において、プレート 2 3 3 上に結晶化すべき生体高分子を含む母液
25

2 2 1が置かれる。沈殿剤 2 2 2は、密閉容器 2 3 0内において、別の容器 2 3 1に収容される。これらの方法では、沈殿剤および母液中の揮発成分の蒸発によって、緩やかに平衡が成立する。

5 X線結晶構造解析により生体高分子の3次元構造を決定するためには、目的とする物質を抽出・精製後、結晶化することが必須となる。従来の一般的な方法によれば、勘と経験に頼ったトライアンドエラーを繰返しながら結晶化が進められる。この場合、生体高分子の結晶を得るためには、非常に多くの実験条件による探索が必要であり、結晶成長がX線結晶解析の分野での最も大きなボトルネックとなっている。

10 従来の一般的な方法に代わる新たな方法として、またはこれらの方法と組合せてより効率的に結晶を成長させるための方法として、価電子が制御された半導体基板等を用いて結晶化を行う方法および装置が開発されている（国際公開公報WO 9 6 / 2 6 7 8 1、WO 9 7 / 4 9 8 4 5、WO 9 8 / 0 2 6 0 1およびWO 9 9 / 2 3 2 8 4参照）。この方法では、価電子制御により、所定の電氣的状態とされる固体素子の表面に、結晶核が静電的な作用によって固定され得る。そして、タンパク質等の化合物は、静電的な相互作用により、固体素子表面に凝集し、結晶核の生成が促進され得、結晶の成長がもたらされ得る。固体素子表面の電氣的特性を制御することにより、結晶化の制御が可能となる。

20 生体高分子の結晶は、概して、他の物質とは異なり、多量（たとえば ≥ 50 体積%）の溶媒を含んでいる。そのような結晶を空気中に放置すると、溶媒が飛散し、結晶は壊れてしまう。これを防ぐため、一般に、結晶をガラス製キャピラリー中に母液とともに封入し、濃度およびpHが平衡である母液の雰囲気下でX線結晶構造解析実験を行っている。最近では、生体高分子結晶を液体窒素などで瞬時に凍らせる flash cooling といわれる手法を用い、結晶に含まれる溶媒をガラス状態に保ってX線結晶構造解析を行うこともある。いずれにせよ、母液から十分な大きさの結晶を成長させ、それを破壊させることなくX線構造解析に供することが重要である。

発明の開示

本発明の目的は、試行錯誤を繰返ししながら進められる従来の一般的な結晶化プロセスの欠点を技術的に解消することである。

本発明のさらなる目的は、静電的な作用を用いて、溶液中の生体高分子を固体表面の特定領域に凝集し、吸着することができる装置および方法を提供することである。

具体的には、本発明の目的は、種々の生体高分子および生体高分子から主として構成される生体組織の結晶化において、重力の影響による溶液内の対流の影響を低減し、核形成を制御する技術を提供することである。

さらなる本発明の目的は、微結晶の大量生成を抑制または制御し、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる技術を提供することである。

さらなる本発明の目的は、少量の生体高分子溶液で、結晶化を可能にするための技術を提供することである。

さらに本発明の目的は、少量の溶液で結晶化を可能にするための方法および装置を提供することにある。

さらに本発明の目的は、生成した結晶を破壊することなく容易に取り出すことができる装置および方法を提供することである。

さらに本発明の目的は、タンパク質を初めとした生体高分子の結晶を固体表面上で成長させる技術において、結晶を取り出すプロセスの欠点を技術的に解消することである。

さらに本発明の目的は、結晶化に適した条件を容易に見出し得る技術を提供することである。

特に、本発明の目的は、種々の高分子の結晶化または凝集化に適した条件をより短い時間でもたらし得る新規なスクリーニング装置およびスクリーニング法を提供することである。

本発明の一態様により、溶液中に含まれる帯電した物質を該溶液から分離するための装置が提供され、この装置は、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた互いに実質的に異なる材料からなる複数種の固体を備える。この装置において、複数種の固体の表面は、同時に溶液に接触するよう配置されており、かつ複数種の固体の表面は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位

またはゼータ電位を有するものであり、それにより、複数種の固体のいずれかの表面に、物質をより強く静電的に吸着させるようになっている。

本発明による装置において、複数種の固体のうち少なくとも1種は、多孔性の表面を有してもよい。多孔性の表面を有する固体の表面は、残りの固体の表面と異なる表面電位またはゼータ電位を有することができ、該多孔性の表面に、物質をより強く静電的に吸着させるようにすることができる。好ましくは、多孔性の表面は、分離すべき物質のサイズと略同等またはそれ以下の孔径を有する孔を主として有する。好ましくは、多孔性の表面を有する固体の材料はアルミナである。

本発明による装置は、複数種の固体の表面上で溶液を保持するための囲い壁をさらに備えることが好ましい。

本発明の好ましい態様において、複数種の固体は、所定の領域において互いに隣合うよう配置され、かつ所定の領域において、物質をより強く静電的に吸着させる固体の表面が占める面積は、残りの固体の表面が占める面積以下である。

本発明による装置において、複数種の固体は、同一の基板上に形成することができる。基板は半導体基板とすることができる。

本発明による装置において、複数種の固体を与える材料は、積層構造を有することができ、該積層構造において、上層に位置する材料は、下層に位置する材料上の複数の位置に、間隔をあけて設けることができる。

本発明のもう一つの態様により、溶液中に含まれる帯電した物質を該溶液から分離するための装置が提供され、そこにおいて、該装置は溶液と接触するための表面を有し、該表面は複数の領域を有し、該複数の領域のそれぞれは、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた互いに実質的に異なる材料の露出した表面であり、該複数の領域は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位に帯電し、該複数の領域のいずれかに、帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている。

本発明の他の態様により、溶液中に含まれる帯電した物質を該溶液から分離するための装置が提供され、該装置は、第1の固体と、第2の固体とを備え、そこにおいて、第1の固体は、半導体基板であり、第2の固体は、第1の固体上に形成される半導体化合物製のアイランドまたは金属化合物製のアイランドである。

第1の固体の表面および第2の固体の表面は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位に帯電するものであり、それにより、第2の固体の表面に帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている。好ましくは、半導体基板はシリコン基板である。アイランドの少なくとも頂部の材料は、シリコン酸化物、シリコン窒化物、金属酸化物または金属窒化物のいずれかとする
5 ことができる。アイランドの頂部の幅は、 $10\mu\text{m} \sim 200\mu\text{m}$ が好ましい。装置は、アイランドを囲むように第1の固体表面上に設けられた、溶液を保持するための囲い壁を有することができる。好ましくは、囲い壁で取り囲まれた領域において、第1の固体と第2の固体は互いによりあうように配置され、該領域
10 内における、第2の固体の頂部の表面の面積は第1の固体の表面の面積より小さい。第2の固体は、頂部の幅の異なる複数のアイランドとすることができる。たとえば、第1の固体の表面部分の材料と前記第2の固体の表面部分の材料との組合せは、シリコン-シリコン酸化物、シリコン-シリコン窒化物またはシリコン-アルミナのいずれかの組合せである。

15 本発明の他の態様により、溶液中に含まれる帯電した物質を前記溶液から分離するための装置が提供され、該装置は、半導体基板と、第1の固体と、第2の固体とを備え、第1の固体は、半導体基板上に形成された半導体化合物膜または金属化合物膜であり、第2の固体は、第1の固体上に形成される半導体化合物製のアイランドまたは金属化合物製のアイランドである。第1の固体の表面および第
20 2の固体の表面は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位に帯電するものであり、それにより、第2の固体の表面に帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている。好ましくは、半導体基板はシリコン基板である。たとえば、アイランドの少なくとも頂部の材料は、シリコン酸化物、シリコン窒化物、金属酸化物または金属窒化物のいずれかである。アイランドの
25 頂部の幅は $10\mu\text{m} \sim 200\mu\text{m}$ であることが好ましい。装置は、アイランドを囲むように第1の固体表面上に設けられた、溶液を保持するための囲い壁を有することができる。好ましくは、囲い壁で取り囲まれた領域において、第1の固体と第2の固体は互いによりあうように配置され、該領域内における、第2の固体の頂部の表面の面積は第1の固体の表面の面積より小さい。第2の固体は、頂

部の幅の異なる複数のアイランドとすることができる。たとえば、第1の固体の表面部分の材料と第2の固体の表面部分の材料との組合せは、シリコン酸化物ーシリコン窒化物、シリコン酸化物ーアルミナまたはシリコン窒化物ーアルミナのいずれかの組合せである。

5 本発明の他の態様により、溶液中に含まれる帯電した物質を該溶液から分離するための装置が提供され、該装置は、複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第1の部材と、複数の貫通孔をふさぐように、第1の部材と組み合わされる第2の部材とを備える。第2の部材の貫通孔に露出した表面には、第1領域と第2領域がある。該表面が溶液と接触するとき、第1領域と第2領域は互いに異なる
10 表面電位またはゼータ電位に帯電し、それにより第2領域に帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている。

 本発明において、第1の領域は、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた第1の材料の露出した表面とすることができ、第2の領域は、第1の材料とは実質的に異なる金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から
15 選ばれた材料が露出した表面とすることができる。典型的には、第1の材料は、シリコン、シリコン酸化膜およびシリコン窒化膜よりなる群から選ばれた材料であり、第2の材料は、シリコン、シリコン窒化物および金属酸化膜よりなる群から選ばれた材料である。装置において、複数の第2の部材を設けることができ、
1 1つの第1の部材と、複数の第2の部材とを組み合わせることができる。

20 また、本発明において、第1の領域は、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた第1の材料の露出した表面とすることができ、第2の領域は、第1の材料とは実質的に異なる材料が露出した表面とすることができる。複数の第2の部材間で、第1の材料と第2の材料との組合せが異なってもよい。

 好ましくは、第2の領域は第1の領域よりも小さい。

25 本発明による装置は、物質を含む溶液のpHを測定するための手段をさらに備えることができる。好ましくは、該pH測定手段は、半導体層と、半導体層上に形成される絶縁層と、溶液を絶縁層上で保持するための囲い壁と、溶液に接触するように囲い壁に設けられる金属電極とを備える。

 典型的に、本発明において、帯電した物質は有機分子である。典型的に、有機

分は生体高分子である。典型的に、生体高分子はタンパク質である。

典型的に、本発明による装置は、有機分子の結晶を調製するためのものである。

本発明により、溶液中に含まれる帯電した有機分子を該溶液から分離するための方法が提供され、該方法は、有機分子を含み、かつ有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、上記装置の複数種の固体の表面に接触させる工程を備える。

本発明の他の態様により、溶液中に含まれる帯電した有機分子を該溶液から分離するための方法が提供され、該方法は、有機分子を含み、かつ有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、上記装置の複数種の固体の表面に接触させる工程、および複数種の固体の表面のいずれかの上で有機分子の結晶が成長するよう、接触を維持する工程を備える。

本発明による他の結晶調製方法は、有機分子を含み、かつ有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、上記装置の複数種の固体の表面に接触させる工程、および複数種の固体の表面のいずれかの上で有機分子の結晶が成長するよう、該装置を沈殿剤と共に密封して、接触を維持する工程を備える。

本発明による方法において、有機分子を含む溶液の pH は、複数種の固体の表面のうち少なくとも 1 つに有機分子と逆の極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであり、かつ残りの固体の表面に有機分子と同じ極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものである。

本発明により、上記装置のためのキットが提供され、該キットは、複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第 1 の部材、および溶液中で互いに異なる表面電位またはゼータ電位を示す複数種の表面をそれぞれ有する複数の第 2 の部材を備える。

本発明の好ましい態様により、溶液中に含まれるタンパク質の結晶を調製するための装置が提供され、該装置は、基板と、基板上の所定の領域に形成された、少なくとも頂上部が基板とは実質的に異なる材料からなる、アイランドとを備え、そこにおいて、アイランドとその周囲に存在する基板の表面を同時に溶液に接触させたとき、基板の表面とアイランドの表面は互いに異なる表面電位に帯電するものであり、それにより、溶液中のタンパク質分子をアイランド上に吸着させてアイランド上に蛋白質の結晶を成長させるようになっている。装置は、アイラン

ドとその周囲に存在する基板の表面を取り囲むように基板上に設けられた囲い壁を有することができる。好ましくは、囲い壁で取り囲まれた部分に存在するアイランドの頂部の表面の占める面積は、該部分に存在するアイランド以外の基板表面の占める面積より小さい。アイランドの頂部は、タンパク質の結晶がそのアイランド頂部からはみ出して成長できるような幅を有することが好ましい。たとえば、アイランドの頂部の幅は $10\mu\text{m}\sim 200\mu\text{m}$ である。

本発明の他の好ましい態様により、溶液中に含まれる蛋白質の結晶を調製するための装置が提供され、該装置は、基板と、基板上に形成された膜と、膜上に形成された、少なくとも頂上部は該膜とは実質的に異なる材料からなる、アイランドとを備え、そこにおいて、アイランドとその周囲に存在する膜の表面を同時に溶液に接触させたとき、膜の表面とアイランドの表面は互いに異なる表面電位に帯電するものであり、それにより、溶液中のタンパク質分子をアイランド上に吸着させてアイランド上に蛋白質の結晶を成長させるようになっている。装置は、アイランドとその周囲に存在する膜の表面を取り囲むように基板上に設けられた囲い壁をさらに備えることができる。好ましくは、囲い壁で取り囲まれた部分に存在するアイランドの頂部の表面の占める面積は、該部分に存在するアイランド以外の基板表面の占める面積より小さい。アイランドの頂部は、タンパク質の結晶がそのアイランド頂部からはみ出して成長できるような幅を有することが好ましい。たとえば、アイランドの頂部の幅は $10\mu\text{m}\sim 200\mu\text{m}$ である。

本発明の他の態様により、溶液中に含まれる有機分子の結晶を調製するための装置が提供され、該装置は、(1) 複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第1の部材と、(2) 前記第1の部材に接合された複数の第2の部材とを備え、第2の部材は、(a) 基板と、(b) 前記基板の表面に形成された、少なくとも頂部は前記第1の基板とは異なる材料からなるアイランドとを備える。アイランドは、貫通孔の内側に存在するように形成されている。好ましくは、基板はシリコンからなり、アイランドの少なくとも頂部の材料は金属酸化物またはシリコン窒化物からなる。

本発明の他の態様により、溶液中に含まれる有機分子の結晶を調製するための装置が提供され、該装置は、(1) 複数の貫通孔が互いに離れて設けられている

第1の部材と、(2) 前記第1の部材に接合された複数の第2の部材とを備え、第2の部材は、(a) 基板と、(b) 前記基板の表面に形成された前記基板とは異なる材料からなる膜と、(c) 前記膜上に形成された、少なくとも頂上部は前記膜とは異なる材料からなるアイランドとを備える。アイランドは、貫通孔の内側

5 に存在するように形成されている。好ましくは、基板はシリコンからなり、アイランドの少なくとも頂部の材料は金属酸化物またはシリコン窒化物からなる。

図面の簡単な説明

図1 Aは、従来の蒸気拡散法による結晶化装置の一例を示す平面図であり、図

10 1 Bは、そのX' - X' 断面図である。

図2 Aおよび2 Bは、従来の結晶成長法を示す模式図である。

図3は、本発明による装置の一具体例を示す概略断面図である。

図4は、本発明による装置のもう一つの具体例を示す概略断面図である。

図5 Aおよび5 Bは、アイランドに与えられる吸着表面の幅が異なる装置をそ

15 れぞれ示す概略断面図である。

図6 Aおよび6 Bは、本発明による装置において、多孔性の固体表面に有機分子が吸着および固定される様子を示す模式図である。

図7は、本発明による装置において、多孔性の固体表面に有機分子が吸着および固定される様子を示す模式図である。

図8は、本発明による装置の製造に用いられる陽極酸化の方法を示す模式図である。

20 ある。

図9は、溶液中の2種の固体表面およびタンパク質分子の表面電荷が、溶液のpHによって変化する様子を示す図である。

図10は、溶液中の2種の固体表面およびタンパク質分子の表面電荷が、溶液

25 のpHによって変化する様子を示す図である。

図11は、いくつかの物質のゼータ電位のpH依存性を示す図である。

図12 A~12 Cは、本発明による装置において、複数の固体表面が配置されるパターンの例を示す平面図である。

図13 Aおよび13 Bは、本発明による装置において、複数の固体表面が配置

されるパターンの例を示す断面図である。

図 1 4 は、本発明に従い、複数の好ましい吸着表面を有する装置の一例を示す平面図である。

5 図 1 5 は、本発明に従い、複数の装置で条件の異なる結晶化を行なうことを示す図である。

図 1 6 A ～ 1 6 D は、種々の形状のアイランドを概略的に示す斜視図である。

図 1 7 A および 1 7 B は、複数のアイランドが設けられた装置の部分を示す斜視図である。

10 図 1 8 A は、本発明による装置のもう一つの例を示す断面図であり、図 1 8 B は、その平面図である。

図 1 9 A ～ 1 9 D は、図 1 8 A および 1 8 B に示す装置を製造する方法を説明する概略断面図である。

図 2 0 A は、本発明による装置のもう一つの例を示す断面図であり、図 2 0 B は、その平面図である。

15 図 2 1 A ～ 2 1 D は、図 2 0 A および 2 0 B に示す装置を製造する方法を説明する概略断面図である。

図 2 2 A は、本発明による装置の他の例を示す断面図であり、図 2 2 B は、その平面図である。

20 図 2 3 A ～ 2 3 D は、図 2 2 A および 2 2 B に示す装置を製造する方法を説明する概略断面図である。

図 2 4 A ～ 2 4 D は、本発明による装置を製造する他の方法を説明する概略断面図である。

図 2 5 A は、本発明による結晶調製用装置の一具体例を示す平面図であり、図 2 5 B は、その X-X 断面図である。

25 図 2 6 A は、図 2 5 A および 2 5 B に示す第 2 の基板を示す平面図であり、図 2 6 B は、その Y-Y 断面図である。

図 2 7 は、図 2 5 A および 2 5 B に示す装置において、結晶化すべき高分子を含む溶液が保持されている様子を示す断面図である。

図 2 8 A ～ 2 8 E は、図 2 5 A および 2 5 B に示す装置に使用される第 2 の基

板の構造を模式的にそれぞれ示す断面図である。

図 29 A ~ 29 C は、図 28 A ~ 28 E に示す基板を製造するための工程を示す概略断面図である。

5 図 30 A ~ 30 E は、本発明による装置に使用される特定の結晶化部材を模式的に示す断面図である。

図 31 A は、本発明による第 2 の基板の別の例を示す平面図であり、図 31 B は、本発明により第 1 の基板と第 2 の基板を組合せた装置の別の例を示す断面図である。

10 図 32 A は、結晶化領域における表面の配置の一例を示す平面図であり、図 32 B は、その断面図である。

図 33 A は、結晶化領域における表面の配置のもう一つの例を示す平面図であり、図 33 B は、その断面図である。

図 34 A は、本発明による装置の他の具体例を示す平面図であり、図 34 B は、その Z-Z 断面図である。

15 図 35 は、図 33 A および 33 B に示す第 2 の基板の平面図である。

図 36 は、図 33 A および 33 B に示す装置において、高分子を含む溶液が保持されている様子を示す断面図である。

図 37 A は、沈殿剤を保持するための基板が組合された装置を示す平面図であり、図 37 B は、その断面図である。

20 図 38 は、図 37 A および 37 B に示す装置の使用形態を示す断面図である。

図 39 は、図 37 A および 37 B に示す装置の他の使用形態を示す断面図である。

図 40 は、本発明の装置に設けられる pH センサーの一例を示す概略断面図である。

25 図 41 は、図 40 に示す pH センサーで測定される容量電圧特性の例を示す図である。

図 42 は、図 40 に示す pH センサーで測定される容量電圧特性から求められるフラットバンド値と溶液の pH との関係を示す図である。

図 43 は、本発明による装置において pH を測定する流れを示す模式図である。

図 4 4 は、本発明による装置の他の例を示す斜視図である。

図 4 5 は、図 4 4 に示す装置の断面図である。

図 4 6 は、図 4 4 に示す装置における電極を拡大した断面図である。

5 図 4 7 A および 4 7 B は、図 4 4 に示す装置において結晶成長用セルに設けられるアイランドのパターンを拡大して示す平面図である。

図 4 8 は、図 4 4 に示す装置が有する発熱素子の構造を拡大して示す斜視図である。

図 4 9 A ～ 4 9 E は、図 4 4 に示す装置の基台部を製造する方法を示す概略断面図である。

10 図 5 0 A ～ 5 0 F は、図 4 4 に示す装置の溶液保持プレートを製造する方法を示す概略断面図である。

図 5 1 は、本発明による装置において pH を測定する流れを示す模式図である。

図 5 2 は、本発明による装置のさらなる例を示す平面図である。

15 図 5 3 A ～ 5 3 F は、多孔性の表面を有する本発明による装置の基台部を製造する方法を示す概略断面図である。

図 5 4 A ～ 5 4 F は、図 5 3 A ～ 5 3 F のプロセスにより形成される基台部と組み合わせられる溶液保持プレートを製造する方法を示す概略断面図である。

発明を実施するための最良の形態

20 タンパク質を初めとする生体高分子のほとんどは、溶液内において幾何学的に特異的な構造および静電的な相互作用（静電斥力・引力、ファンデルワールス力）によって分子間同士の認識が行なわれている。静電的なエネルギーに基づく分子間の相互作用においては、個々の分子最表面でのわずかな空間的な電荷分布の相違が、分子間の認識度合い、分子集合体の作りやすさに決定的な影響を及ぼす
25 ことが予想される。したがって、溶液内をブラウン運動しながら衝突を繰返している個々の分子では、周期的かつ規則的な構造を有する分子集合体の核が非常に形成されにくいと考えられる。

タンパク質分子の結晶生成に関しては、その核生成の初期過程が重要であるとの報告がなされている。結晶化の初期過程において核となる分子を 2 次元的に配

列させる何らかの条件が整えば、その後の結晶化は、これを核としてエピタキシャル的に進行するものと考えられる。

本発明による装置および方法は以下に説明するような作用機構に基づき、溶液中で帯電した有機分子を装置の特定の領域に選択的に吸着させることができる。

5 また、その結果、特定の領域に結晶核が形成され、好ましい結晶成長をもたらすことができる。

図3に示すように、本発明による装置10は、第1の表面11aを有する第1の固体11、および第2の表面12aを有する第2の固体12を有する。第1の固体11と第2の固体12は、実質的に異なる材料からなる。ここで、「実質的に異なる」とは、固体を構成する主材料が異なっていることを意味する。固体を構成する材料は、金属、半導体、またはそれらの化合物、たとえば酸化物、水酸化物、窒化物等である。装置10は、分離または結晶化すべきタンパク質等の有機分子13を含む溶液14と接触させられる。有機分子13の表面は、分子全体をマクロ的に見た場合、その分子の等電点以外のpHを有する溶液において、通常、正または負に帯電している。また、本発明による装置において、上述した材料の固体表面11aおよび12aも、溶液14中で帯電する。このとき、固体の表面の電位の大きさおよび極性は、固体の材質および溶液のpHに依存する。たとえば、あるpHの溶液中で、固体表面11aは負に帯電し、固体表面12aは正に帯電する。一方、有機分子13は、当該pHの溶液中で負に帯電する。この場合、溶液14中の有機分子13は、有機分子13と逆の極性で帯電する固体表面12aに静電的な引力に従って選択的に吸着される。有機分子13と同じ極性で帯電する固体表面11aへの吸着は、静電作用により阻害される。こうして、固体表面12a上での有機分子13の分離が進められ、そして、好ましくは、有機分子13の結晶核が形成され、結晶化が進められる。このように、帯電した有機分子を含む溶液中に、表面電位またはゼータ電位の異なる複数種の固体を設ければ、いずれかの固体の表面で、当該有機分子を選択的に吸着させることができる。そして、その結果、当該固体の表面に結晶核が形成されて、選択的に結晶化を進めることができる。

10

15

20

25

また、図4に示すように、本発明による装置10は、第1の表面11aを有す

る第1の固体11、および第2の表面12aを有するアイランド状（あるいは凸状）の第2の固体12を有してもよい。第1の固体11と第2の固体12は、実質的に異なる材料からなってもよいし、共通する主材料を有してもよい。ここで、「実質的に異なる」とは、固体を構成する主材料が異なっていることを意味する。

- 5 両者の固体が共通する主材料を含む場合、一般に、不純物、微量成分等の副材料の量または種類が互いに異なっている。固体を構成する材料は、たとえば金属、半導体、またはそれらの化合物、たとえば酸化物、水酸化物、窒化物等である。装置10は、タンパク質等の結晶化すべき有機分子13を含む溶液14と接触させられる。有機分子13の表面は、分子全体をマクロ的に見た場合、その分子の
- 10 等電点以外のpHを有する溶液において、通常、正または負に帯電している。また、本発明による装置において、表面11aおよび12aも、溶液14中で帯電する。このとき、表面の電位の大きさおよび極性は、固体の材質および溶液のpHに依存する。たとえば、あるpHの溶液中で、固体表面11aは負に帯電し、固体表面12aは正に帯電し、有機分子13は負に帯電する。この場合、溶液1
- 15 4中の有機分子13は、有機分子13と逆の極性で帯電する固体表面12aに静電的な引力に従って選択的に吸着される。有機分子13と同じ極性で帯電する固体表面11aへの吸着は、静電作用により阻害される。こうして、固体表面12a上での有機分子13の結晶核が形成され、結晶化が進められる。しかし、必ずしも第1の表面と第2の表面とが溶液中で逆の極性を示す必要はない。第1およ
- 20 び第2の表面が同じ極性の電荷を帯びていてもその電荷量が異なれば、そのいずれかにより強く高分子を引き寄せ、吸着させることができる。このように、溶液中における固体表面の静電的性質を制御しておけば、タンパク質等の高分子を特異的または優先的に吸着あるいは凝集させ得る表面が与えられる。また、高分子を固体表面へ静電的に吸着させることによって、溶液内の対流の影響を低減し、
- 25 安定した結晶成長をもたらすことができる。

上述したように、本発明の装置の表面には、溶液に接触させたときに異なる値の表面電位（ゼータ電位）を帯びる複数種の領域がある。そして、溶液中で帯電している物質、たとえば有機分子は、静電的な作用によって、装置表面の特定の領域に選択的に吸着する。一方、表面のその他の領域への有機分子の吸着は阻害

される。有機分子を吸着させるための領域は、有機分子の吸着を阻害させる領域に較べ、十分に小さいことが望ましい。たとえば、装置の表面に、有機分子を静電吸着させる領域（第２の表面）と吸着を阻害させる領域（第１の表面）とが形成されている場合、第１の表面が占める面積が第２の表面が占める面積に較べ十分に大きいことが望ましい。

図３または図４に示すように、本発明による装置において、有機分子を強く静電吸着させるべき表面１２ａは、突出した部分に与えることが好ましい。本明細書において、この突出し、有機分子が吸着できるような表面を与える部分をアイランドと呼ぶ。図３または図４に示すように、アイランド（固体１２）は、有機分子が吸着しにくい表面１１ａからせり出すように設けられる。アイランド上には、有機分子を吸着すべき表面１２ａが与えられる。通常、この表面はアイランドの頂部に与えられる。加えて、図５Ａに示すように、表面１２ａは、有機分子の結晶１３ａが表面１２ａをはみ出して成長できるような幅 d_1 を有することが好ましい。すなわち、幅 d_1 は、形成すべき結晶のサイズ（径） D_1 より狭いものであることが好ましい。アイランド表面の幅をこのように設定することによって、成長した結晶とアイランド表面との接触面積は制限される。こうして、アイランド表面の結晶に対する吸着力を制限し、成長した結晶を取り出しやすくしている。幅 d_1 は、結晶化すべき分子種に応じて適当な範囲に設定される。たとえば、タンパク質の場合、約０．２～約０．５mmの径を有する結晶が一般にＸ線結晶構造解析に適しているため、幅 d_1 は、その径より小さい幅、たとえば１０～２００ μm の幅が好ましく、１０～１００ μm の幅がより好ましい。一方、図５Ｂに示すように、アイランド表面２２ａの幅 d_2 が、得られる結晶２３ａの径 D_2 よりも広い場合、アイランド表面２２ａの結晶２３ａに対する吸着力が大きくなりすぎ、結晶２３ａが取り出し難くなり得る。このような場合、たとえば、ピペットで結晶を吸い取って回収するとき、慎重に作業しないと結晶が壊れてしまうことがある。一方、図５Ａに示すようにアイランドの吸着力が制限されている場合、結晶をアイランドから離脱させやすく、結晶を壊すことなくより容易にピペットに吸い取ることができる。

さらに、図３または図４に示す装置において、少なくとも固体１２の表面１２

a を多孔性としてもよく、この多孔性の表面 1 2 a に有機分子を選択的に吸着させるようにしてもよい。

5 多孔性の表面は、結晶化すべき分子が固定されやすい凹凸の地形を与える。上述したように静電的に引き寄せられた分子は、多孔性表面の凹部に嵌まり、より強く固定され得る。凹部に固定された分子は、溶液中の対流の影響をより受けにくい。すなわち、表面に吸着された分子が対流によって動くことが抑制され得る。その結果、表面で分子が配列し、良好な結晶核が形成され得る。したがって、多孔性の表面は、結晶性の良い大型の単結晶を成長させ得る。また、多孔性の表面は、非多孔性の表面より大きな表面積を有し、したがって、非多孔性の表面より
10 大きな電荷量を有し得る。

表面に存在する孔の径は、図 6 A および 6 B に示すようにタンパク質等の結晶化すべき分子のサイズ（たとえば分子直径、分子半径×2 または分子の最大径）と略同等とすることができる。この場合、多孔性の表面 3 1 a および 3 1 b は分子ふるいの効果を有し得る。帯電した分子 3 0 a および 3 0 b は、帯電した表面
15 3 1 a および 3 1 b の凹部にはまり込み、静電作用により固定され得る。分子が固体表面の特異的な幾何学的形状および静電的な相互作用を認識し、結晶化初期過程が促進されることが期待される。また、図 6 A および 6 B に示すように、凹凸が二次元的に規則的に配列する固体表面を与えれば、規則的な凹凸の配置に従って、分子が規則的に配置され、良好な結晶が成長することが期待される。

20 また、孔径は、図 7 に示すように結晶化すべき分子のサイズより小さなものでもよい。この場合でも、結晶化すべき分子 3 0 c の一部が表面 3 1 c の凹部にはまり、分子 3 0 c は、表面 3 1 c に固定され得る。

多孔性の表面は、電子ビーム描画装置（電子ビーム露光装置）を用いた直接的な微細加工、あるいは電気化学的手法により形成することができる。電気化学的な手法の典型例は、陽極酸化である。図 8 は、陽極酸化のプロセスを示している。
25 多孔質の表面を形成すべき固体を陽極 3 3 として、電解質溶液 3 5 に浸漬し、適当な陰極 3 4 と陽極 3 3 との間に電流を流す。電気分解反応において、陽極 3 3 は酸化され、その表面に多孔性の酸化皮膜が形成され得る。この多孔性の酸化皮膜を形成する陽極酸化に適する材料には、アルミニウム、チタンがある。

アルミニウムは、特に好ましい材料である。通常、アルミニウムを陽極として、硫酸、シュウ酸、リン酸などの酸性水溶液（電解液）に浸し、陽極酸化を行なうと、多孔性のアルミナ皮膜が形成される。このとき形成される細孔（多孔）は、均一でほぼ等間隔に分布する。その孔の径、深さ、間隔（密度）、形状などは、
5 電解液の種類、ならびに印加する直流電圧の大きさおよび印加時間により制御できる。タンパク質分子のサイズは、10 nm前後かそれ以上であるが、陽極酸化膜の孔径は、一般に5 nm程度まで小さくすることができる。本発明において、多孔性の表面の孔径は、たとえば5 nm～200 nm程度とすることができ、好ましくは5 nm～30 nm程度とすることができ、陽極酸化に関して、「アルミニウム表面技術便覧（軽金属出版）」は、詳細な手法を記載している。また、
10 特開平9-316692号公報は、より小さな径の細孔を形成する技術を開示する。さらに、特開平2-254192号公報、特開平6-32675号公報および特開平6-200378に開示される技術を用いれば、アルミナ以外の物質でも同様な多孔体を調製できる。これらの公報は、まず、アルミナ多孔体を陽極酸化により形成し、得られた多孔体の形状を他の材料に転写する技術を開示する。
15

本発明による装置を構成する材料は、金属、半導体、およびそれらの化合物の中から以下に説明するメカニズムを考慮して選択することができる。

一般に、タンパク質分子、コロイド粒子、ならびに金属、半導体、およびそれらの酸化物、水酸化物または窒化物などの化合物の表面は、水溶液中で、その溶
20 液のpH値によって定まる表面電位（一般にゼータ電位として測定できる）に帯電する。この表面電位が見かけ上ゼロになるときの溶液のpH値が、等電点である。等電点は物質によって異なるが、この等電点より低いpHにおいて物質は正に帯電し、等電点より高いpHにおいて物質は負に帯電する。本発明は、このような物質の性質を利用して、有機分子の選択的分離または結晶化を行なう。たと
25 えば、図9に示すような関係が2つの固体の表面と分離または結晶化すべきタンパク質分子との間に成立するとする。曲線 S_1 は、第1の固体の表面電位と溶液のpHとの関係を表し、曲線 S_2 は、第2の固体（たとえばアイランド）の表面電位と溶液のpHとの関係を表し、曲線Pは、タンパク質分子の表面電位とpHとの関係を表す。第1の固体の表面部分の材料の等電点は3、タンパク質分子の

等電点は6、第2の固体の表面部分の材料の等電点は9である。したがって、斜線で示す領域のpH（タンパク質分子の等電点と第2の固体表面の等電点の間のpH）を有する溶液において、第1の固体の表面およびタンパク質分子は負に帯電し、第2の固体の表面は正に帯電する。このpH領域において、タンパク質分子は、第2の固体の表面に静電引力により吸着または固定される。その結果、第2の固体の表面でタンパク質の結晶核が形成され、そして、結晶成長が促進され得る。一方、タンパク質分子と第1の固体の表面との間には、静電斥力が働く。それゆえ、タンパク質分子は第1の固体の表面には吸着しにくい。

一方、図10に示すような関係が成立するとする。この場合、第1の固体の表面部分の材料の等電点は9、タンパク質分子の等電点は6、第2の固体の表面部分（たとえばアイランドの表面部分）の材料の等電点は3である。そして、第2の固体表面の等電点とタンパク質分子の等電点との間のpHを有する溶液において、第1の固体の表面およびタンパク質分子は正に帯電し、第2の固体の表面は負に帯電する。したがって、斜線に示す領域のpHにおいて、静電引力により、タンパク質分子を第2の固体の表面に選択的に吸着させることができる。このように、結晶化すべき分子を含む溶液（母液）中で異なる帯電特性を示す複数種の固体表面があれば、母液のpHを適当な値に設定することで、いずれかの固体表面（たとえばアイランド表面）に選択的に分子を静電吸着させることができる。そして、その結果、その固体表面に結晶核を形成させて、分子の結晶成長を起こさせることができる。

たとえば、酸化シリコン（ SiO_2 ）の等電点は1.8～2.8である。したがって、 SiO_2 の表面は、その等電点より低いpHの溶液中で正に帯電し、それより高いpHの溶液中で負に帯電する。一方、アルミナ（ $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ）の等電点は9付近である（なお、 $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ の等電点は7.4～8.6程度である）。また、ほとんどのタンパク質は4～7の等電点を有する（たとえば、ヒト血清アルブミン4.7～5.2、ウシインスリン5.3～5.8、インターフェロン（ニワトリ胚）7～8、ヒト成長ホルモン4.9～5.2）。したがって、たとえば、図3または4に示す装置において、第1の固体11の材料を SiO_2 とし、第2の固体（アイランド）12の材料をアルミナとすれば、タンパク質を

含み、かつ6～8のpH（タンパク質の等電点とアルミナの等電点との間の値）を有する溶液14中で、第1の表面11aは負に帯電し、第2の表面12aは正に帯電する。一方、4～7の等電点を有するタンパク質分子は、通常、負に帯電する。したがって、溶液中のタンパク質分子は、正に帯電する第2の表面12a
5 に吸着され得る。一方、タンパク質分子の第1の表面11a上への吸着は阻害され得る。このように、SiO₂とアルミナとの組み合わせは、タンパク質分子の選択的吸着に対し適当である。

また、シリコン(Si)の等電点は添加されている不純物の種類や濃度によって異なるが、たとえば、一般的なn型Siの等電点は3.5～4程度であり、それより低いpHにおいてn型Si表面は正に帯電し、それより高いpHにおいて負に帯電する。また、一般的なp型Siの等電点は5～6程度である。したがって、図3または4に示す装置において、第1の固体11をn型Si基板とし、第2の固体12をSi基板上に形成されたアルミナ製のアイランドとすれば、6～8のpHを有するタンパク質溶液14中で、第1の表面11a（n型Si基板表面）とタンパク質分子は負に、第2の表面12a（アイランドの表面）は正に帯電する。したがって、溶液中のタンパク質分子は、正に帯電する表面12a上に
10 選択的に吸着する一方で、負に帯電する表面11a上への吸着は阻害され得る。このように、シリコンとアルミナとの組み合わせも、タンパク質分子の選択的吸着に対し適当である。

20 本発明による装置において、それぞれの固体表面は、金属、半導体、金属化合物、または半導体化合物からなる。複数種の固体表面を構成する材料の組み合わせは、任意であるが、分離または結晶化すべき分子の等電点が、複数種の固体表面の材料の等電点の間にくるよう、当該組み合わせを選択することが望ましい。すなわち、図9および図10に示すように、分離すべき分子のpH-表面電位曲線が、
25 複数種の固体表面（たとえば第1の固体表面と第2の固体表面）のpH-表面電位曲線の間にくることが望ましい。

本発明において、好ましい半導体には、シリコン、ガリウム・ヒ素(GaAs)、ガリウム・リン(GaP)などがある。好ましい半導体化合物には、酸化シリコン、窒化シリコンなどがあり、好ましい金属化合物には、酸化アルミニウム

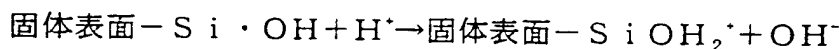
ム ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 、 $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$)、酸化チタン、酸化銅などの金属酸化物や、窒化アルミニウム、窒化チタン、窒化タングステン、窒化タンタル、 TaSiN 、 WSiN などの金属窒化物などがある。複数種の固体の材料の好ましい組合わせ、典型的には2種の固体の材料の好ましい組合わせには、シリコン-アルミナ、酸化シリコン-アルミナ、窒化シリコン (等電点は4~5程度) -アルミナ、シリコン-窒化シリコン、酸化シリコン-窒化シリコン、酸化シリコン-酸化チタン (等電点は5~6.5程度)、シリコン-酸化チタン、酸化チタン-アルミナなどがある。参考として、図11に、アルミナ、p型シリコン、窒化ケイ素、n型シリコンおよび酸化シリコンの表面電位 (測定値としてはゼータ電位) のpH依存性を示す。

このような複数種の固体、たとえば第1の固体および第2の固体 (アイランドまたは凸部) は、同一の基板上に形成することが好ましく、半導体基板上に形成することがより好ましく、特に、シリコン基板上に形成することが好ましい。たとえば、シリコン基板表面の所定の領域にのみアルミナ製のアイランドを形成することで、同一の基板上に第1の固体と第2の固体が形成できる。すなわち、シリコン基板が第1の固体に相当し、アルミナのアイランドが第2の固体に相当する。これにより、2種の固体の組合せとして、シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。また、シリコン基板表面全体にシリコン酸化膜 (SiO_2 膜) を形成し、その SiO_2 膜表面の所定の領域にのみアルミナ製のアイランドを形成することで、酸化シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。 SiO_2 膜に変えてシリコン窒化膜 (Si_3N_4 膜) を形成すれば、同様に窒化シリコン-アルミナの組合わせが形成でき、アルミナの代わりに酸化チタンを形成すれば、シリコン-酸化チタンや酸化シリコン-酸化チタンの組合わせを形成できる。

半導体基板、より好ましくはシリコン基板を用いることで、CVD、ホトリソグラフィ、エッチング等の通常の半導体集積回路の製造と同様な手法によって、容易に複数種の固体表面を有する装置を作製できる。すなわち、CVD技術を用いてシリコン基板上に所望の材料の膜を成膜し、必要に応じてその上に異なる材料の膜を成膜して多層構造とし、ホトリソグラフィ技術を用いて所望の形状のマスクを形成し、エッチング技術を用いてマスクを施した領域以外を除去して下

地を露出させれば、各種の組合わせの複数種の固体表面を有する装置を作製できる。たとえば、シリコン基板の表面にアルミナ膜を成膜し（アルミニウム膜を成膜し、それを陽極酸化してアルミナ膜とする場合を含む）、所定の領域のみを残してそのアルミナ膜をエッチングにより除去してシリコン基板の表面を露出させれば、シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。また、シリコン基板表面にシリコン酸化膜を成膜し、さらにその上にアルミナ膜を成膜し、所定の領域のみを残してアルミナ膜をエッチングにより除去しシリコン酸化膜を露出させれば、酸化シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。このように、シリコン基板上に成膜する膜の材料を変えれば、容易に各種の組合わせが形成できる。

- 10 金属もしくは半導体の酸化物または水酸化物の表面は、水と接すると水和を起こし、水酸基を生成させる。この水酸基の解離により、酸化物または水酸化物の表面は、水溶液のpHに応じて表面電位（ゼータ電位）を生じさせる。たとえば、 SiO_2 では次のような解離が生じる。



- 15 $\text{固体表面}-\text{Si}\cdot\text{OH}+\text{OH}^-\rightarrow\text{固体表面}-\text{SiO}^-+\text{H}_2\text{O}+\text{H}^+$

したがって、酸化物または水酸化物の表面は、低いpHで、プロトン付加により正の電位を帯び、高いpHで、OH基からのプロトンの引き抜きにより負の電位を帯びる。一般に、酸化物または水酸化物は、見かけ上の電位がゼロになる点（等電位点）を有し、この点より高いpHでは、負の表面電位を、この点より低いpHでは、正の表面電位を有する。したがって、異なる等電位点を有する酸化物または水酸化物の組合わせを選択し、本発明に好ましく用いることができる。

- 20 また、詳細な機構は分からないが、金属窒化物または半導体窒化物の表面にも酸化物、水酸化物と同様に水溶液中でその水溶液のpHに応じた電位が発生する。たとえば、 Si_3N_4 の場合は等電点がおおよそ4～5程度であって、それより低いpHで正の表面電位を、それより高いpHで負の表面電位を帯びる。

また、金属や半導体の表面も、同様に、等電点より低いpHの溶液中で正の表面電位を、等電点より高いpHの溶液中で負の表面電位を帯びる。

本発明による装置において、複数種の固体の配置パターンは、任意である。たとえば、図12Aに示すように、平面視した際に、第2の固体の表面42aが第

1の固体の表面4 1 aに囲まれて位置するように2種の固体を配置することは好ましい。この場合、第1の固体の表面4 1 aは、第2の固体の表面4 2 aより顕著に広い。第2の固体の表面4 2 aに有機分子を吸着させれば、結晶核のランダムな生成を効果的に防ぎ、良好な結晶成長をもたらすことができる。すなわち、
5 良好な結晶成長または大きな結晶の形成のためには、本発明による装置の所定の領域において、有機分子をより強く吸着させる固体の表面（第2の固体の表面）は、有機分子の吸着を阻害し得る固体の表面（第1の固体の表面）より顕著に狭いことが好ましい。図1 2 Aに示すもののほか、図1 2 Bに示すように、平面視した際に、第1の固体の表面4 1 bに対し、所定の幅を有する複数の第2の固体の表面4 2 bが所定の間隔をあけて位置するように、第1の固体と第2の固体を
10 配置してもよい。また、図1 2 Cに示すように、第1の固体の表面4 1 cに対し、所定の形状および面積を有する複数の第2の固体の表面4 2 cが、所定の間隔をあけてマトリクス状に位置するように第1の固体と第2の固体を配置してもよい。図1 2 A、1 2 B、1 2 Cにおいて、少なくとも第2の固体の表面4 2 a、4 2 b、4 2 cを多孔性としてもよく、その孔径は結晶化すべき分子のサイズと略同等かそれ以下であるが好ましい。

複数種の固体の配置は、図1 3 Aに示すように第1の固体5 1 a上に第2の固体5 2 aが配置される積層構造とした方が半導体集積回路の製造と同様の手法を用いて少ない工程で作製できるので好ましい。しかし、図1 3 Bに示すように、
20 所定の面に複数種の固体5 1 bおよび5 2 bの表面が同じレベルで設けられる構造を有してもよい。

また、図1 4に示すように第1の固体6 1に対し、これと異なる複数種の第2の固体6 2および6 3を配置することができる。固体6 2および6 3は、所定のpHを有する溶液に対し、異なる表面電位を有する。たとえば、固体6 1は酸化シリコン製とし、固体6 2はアルミナ製とし、固体6 3は酸化チタン製とすることができる。分離または結晶化すべき特定の有機分子は、固体6 2および6 3の
25 いずれかの表面上により強く吸着され得る。有機分子をより強く吸着させ得る固体（第2の固体）の最適な材料は、目的とする有機分子により異なることが考えられる。図1 4に示すように第2の固体を複数種形成することにより、1つの装

置で各種の有機分子の分離、結晶化に利用できる装置を提供できる。図14の装置では、第2の固体は2種類であるが、3種以上形成することもできる。このような装置も同様に半導体集積回路の一般的な製造方法を用いて容易に作製可能である。たとえば、シリコン基板上に SiO_2 膜、 TiO_2 膜、 Al_2O_3 膜を順に成膜、積層して、固体62および63の領域を残して Al_2O_3 膜を除去して下地の TiO_2 膜を露出させ、その後、露出した TiO_2 膜のうち固体63の領域を残して TiO_2 膜を除去して SiO_2 膜を露出させればよい。

第2の固体の表面を多孔性とした場合、その孔径を変えた複数種の第2の固体を形成することもできる。材料同様に最適な孔径も有機分子により異なることが考えられる。したがって、表面の孔径の異なる複数種の第2の固体を形成しておけば、そのいずれかの第2の固体の表面で良好に有機分子が選択吸着され、さらには、その表面での良好な結晶成長が期待できる。

また、特定の有機分子の分離のため、図15に示すように、複数の装置を提供してもよい。装置71、72および73は、それぞれ、異なる材料からなる固体71a、72aおよび73aを有する。装置71～73のいずれかにおいて、分離または結晶化がより好ましく進行し得る。同時に使用される固体の材料の種類を多くすることによって、より多くの有機分子の分離または結晶化に対応することができる。

本発明による装置において、アイランドは任意の形状とすることができる。たとえば、アイランドは、図16Aまたは16Bに示すように、断面が略矩形の細長い直方体または断面が略台形の細長い角錐台の形状を有してもよい。また、図16Cに示すように、略円筒形でもよいし、図16Dに示すような角柱形でもよい。いずれの場合も、アイランドにおいて有機分子を吸着すべき表面32a～dは、その上で有機分子の結晶がはみ出して成長するような幅dを有することが好ましい。すなわち幅dは得るべき結晶の径よりも小さいことが好ましい。また、図17Aに示すように同じ形状のアイランドを複数設けてもよいし、図17Bに示すように、制限された範囲において幅の異なる複数種のアイランドを設けてもよい。目的とする有機分子の性質により、また溶液のpHや濃度や温度などにより、結晶化に必要な吸着力と成長した結晶の取り出し易さとの兼ね合いで、適切

なアイランド幅が異なることも考えられるが、幅の異なる複数種のアイランドを用意することにより、そのいずれかのアイランドで良好に結晶成長が行われ、かつ成長した結晶を容易に取り出せることが期待できる。

本発明による装置において、複数種の固体は、同一の基材上に設けることが好ましい。図18Aおよび図18Bは、その一例を示す。装置80において、シリコン基板81上に SiO_2 膜82が形成され、その上に Al_2O_3 のアイランド84が形成されている。アイランド84の周りでは、 SiO_2 膜82が露出している。基板81上には、 SiO_2 膜82上で溶液85を保持するため、囲い壁86が設けられている。囲い壁86は、溶液85の流れを堰きとめるための部材である。囲い壁86により溶液を保持するための部分が形成される。この装置は、上述した酸化シリコン-アルミナの組合わせを提供する。すなわち、 SiO_2 膜82が第1の固体に相当し、アイランド84が第2の固体に相当する。溶液85が7~8のpHを有するとき、上述したように SiO_2 膜82は負に帯電し、アルミナのアイランド84の表面は正に帯電する。一方、溶液85中に存在する分離すべき有機分子が4~7の等電点を有する場合、当該分子は、通常、負に帯電する。したがって、溶液85中の分子は、正に帯電するアイランド84上に選択的に吸着され、その結果、アイランド84上で結晶成長が起こり得る。一方、有機分子の SiO_2 膜82上への吸着は阻害される。このような装置は、結晶成長装置として使用することができる。このような装置において、 SiO_2 膜を設けずにシリコン基板上に直接アルミナのアイランドを形成し、シリコン基板そのものの表面を吸着阻害用の表面として使用してもよい。このようにするとシリコン-アルミナの組合わせが提供される。この場合は、シリコン基板が第1の固体に相当し、アルミナのアイランドが第2の固体に相当する。また、アルミナの代わりに他の金属酸化物、金属窒化物、半導体酸化物または半導体窒化物を使用してもよい。さらに、シリコン以外の半導体、または金属の基板を使用してもよい。

図18Aおよび18Bに示す装置のアイランドは、たとえば図19A~図19Dに示すような工程によって作製できる。まず、図19Aに示すように、シリコン基板81上に SiO_2 膜82を形成する。次いで、図19Bに示すように SiO_2 膜82上に Al_2O_3 膜94を形成する。これらの膜は、蒸着、スパッタリン

グ等によって形成できる。通常のホテルソグラフィー技術を用いて、図19Cに示すようなレジストパターン95を形成する。その後、レジストで覆われていない部分をエッチングすることにより、図19Dに示すようなアイランド84が得られる。得られた構造物に囲い壁をもたらし部材を結合すれば、図18Aおよび18Bに示すような装置が得られる。このとき、囲い壁は、溶液中の有機分子の吸着を阻害し得る材料、たとえば低い等電点を有するガラス等で形成することが望ましい。ただし、有機分子を吸着させる固体（アイランド）と囲い壁との距離が溶液中の有機分子の拡散距離（有機分子が溶液中で移動し得る距離）よりも十分に長い場合は、この限りではなく、他の材料で囲い壁を形成しても問題ない。

また、上記工程において、シリコン基板上に形成する膜の材料を変えることにより、種々の組合わせの固体を有する装置を得ることができる。

図20Aおよび20Bは、多孔性の表面を有する固体を備えた本発明による装置の一具体例を示す。装置80において、シリコン基板81上に SiO_2 膜82が形成され、その上に Al_2O_3 のアイランド84が形成されている。アイランド84の表面は多孔性である。アイランド84は、アルミナ多孔層84aおよびアルミナバリア層84bを有する。アイランド84の周りでは、 SiO_2 膜82が露出している。基板81上には、 SiO_2 膜82上で溶液85を保持するため、囲い壁86が設けられている。囲い壁86は、溶液85の流れを堰きとめるための部材である。囲い壁86により溶液を保持するための部分が形成される。この装置は、上述した酸化シリコン-アルミナの組合わせを提供する。すなわち、 SiO_2 膜82が第1の固体に相当し、アイランド84が第2の固体に相当する。溶液85が7～8のpHを有するとき、上述したように SiO_2 膜82は負に帯電し、多孔性アルミナのアイランド84は正に帯電する。一方、溶液85中に存在する分離すべき有機分子が4～7の等電点を有する場合、当該分子は、通常、負に帯電する。したがって、溶液85中の分子は、正に帯電するアイランド84に選択的に吸着され、その結果、アイランド84で結晶成長が起こり得る。一方、有機分子の SiO_2 膜82上への吸着は阻害される。このような装置は、結晶調製装置として使用することができる。このような装置において、 SiO_2 膜を設けずにシリコン基板上に直接多孔性のアルミナアイランドを形成し、シリコン基

板そのものの表面を吸着阻害用の表面として使用してもよい。この場合、シリコン-アルミナの組合わせを提供する。この場合は、シリコン基板が第1の固体に相当し、アルミナのアイランドが第2の固体に相当する。また、アルミナの代わりに他の金属酸化物、金属窒化物、半導体酸化物または半導体窒化物を使用してもよい。さらに、シリコン以外の半導体、または金属の基板を使用してもよい。ただし、有機分子を吸着させるべき固体（図20Aおよび20Bに示す装置ではアイランド84）は、多孔性の表面を有することが望ましく、陽極酸化によって容易に多孔性の表面を形成できるという理由から、アルミニウムを陽極酸化して得られるアルミナが、当該固体の材料として最も好ましい。

図20Aおよび20Bに示す装置のアイランドは、たとえば図21A～図21Dに示すような工程によって作製できる。まず、図21Aに示すように、シリコン基板81上に SiO_2 膜82を形成する。次いで、図21Bに示すように SiO_2 膜82上にアルミニウム膜94を形成する。これらの膜は、蒸着、スパッタリング等によって形成できる。次いで、図21Cに示すように、アルミニウム膜94について陽極酸化を行ない、アルミニウム膜94の少なくとも表面部分を多孔性のアルミナ層95に変える。アルミナ層95の下には、アルミニウム層94'が残っていてもよい。ただし、本装置をタンパク質の結晶調製用に用いる場合は、アルミニウム膜94の全てをアルミナに変える方が望ましい。タンパク質の結晶化に用いる緩衝溶液には、アルミニウムを溶かすものもあるためである。

次に、通常のプロトリソグラフィ技術を用いてレジストパターンを形成する。その後、レジストで覆われていない部分をエッチングすることにより、図21Dに示すように SiO_2 膜82上に多孔性アイランド84が得られる。得られた構造物に囲い壁をもたらし部材を結合すれば、図20Aおよび20Bに示すような装置が得られる。このとき、囲い壁は、溶液中の有機分子の吸着を阻害し得る材料、たとえば低い等電点を有するガラス等で形成することが望ましい。ただし、有機分子を吸着させる固体（アイランド）と囲い壁との距離が溶液中の有機分子の拡散距離（有機分子が溶液中で移動し得る距離）よりも十分に長い場合は、この限りではなく、他の材料で囲い壁を形成しても問題ない。また、上記工程において、シリコン基板上に形成する膜の材料を変えることにより、種々の組合わせの固体

を有する装置を得ることができる。

図18A、18Bまたは図20A、20Bに示すような装置を有機分子の結晶調製装置として使用する場合は、アイランド84の幅は、前述のように、調製される結晶のサイズより狭いことが望ましい。たとえば、タンパク質の結晶を調製するための装置の場合は、アイランドの幅を10～200 μ mにすることが望ましく、10～100 μ mがより望ましい。

図22Aおよび図22Bは、本発明による装置のさらなる例を示す。装置80において、シリコン基板81上にアルミナ(Al_2O_3)からなる表面84aを与えるアイランド84が形成されている。アイランド84において、表面84aを支持する部分84bは、シリコンからなる。アイランド84の周りでは、シリコン基板81自体の表面が露出している。基板81上には、溶液85を保持するため、囲い壁86が設けられている。囲い壁86は、溶液85の流れを堰きとめるための部材である。囲い壁86により溶液を保持するための部分が形成される。溶液85が7～8のpHを有するとき、シリコン基板81の表面は負に帯電し、アルミナの表面84aは正に帯電する。一方、溶液85中に存在する結晶化すべき有機分子が4～7の等電点を有する場合、当該分子は、通常、負に帯電する。したがって、溶液85中の分子は、正に帯電するの表面84a上に選択的に吸着され、その結果、表面84a上で結晶成長が起こり得る。一方、有機分子のシリコン基板81上への吸着は阻害される。また、アイランドの表面84aの幅dは、図5Aに示すように、得られる結晶の径よりも小さいものであり、たとえば、10～200 μ mである。一方、このような装置の代わりに、シリコン基板上に酸化シリコン(SiO_2)膜を形成し、その上にアルミナのアイランドを形成し、酸化シリコンの表面を吸着阻害用の表面として使用してもよい。また、アルミナの代わりに他の金属酸化物、金属窒化物、半導体酸化物または半導体窒化物を使用してもよい。さらに、シリコン以外の半導体、または金属の基板を使用してもよい。

図22Aおよび22Bに示す装置のアイランドは、たとえば図23A～図23Dに示すような工程によって作製できる。まず、図23Aに示すように、シリコン基板81を準備する。次いで、図23Bに示すようにシリコン基板81上にA

1₂O₃膜94を形成する。この膜は、蒸着、スパッタリング等によって形成できる。通常のホテルソングラフィー技術を用いて、図23Cに示すようなレジストパターン95を形成する。その後、レジストで覆われていない部分をエッチングし、レジストを除去することにより、図23Dに示すようなアイランド84が得られる。アイランド84の頂部にはAl₂O₃の表面84aが与えられる。得られた構造物に囲い壁をもたらし部材を結合すれば、図22Aおよび22Bに示すような装置が得られる。このとき、囲い壁は、溶液中の有機分子の吸着を阻害し得る材料、たとえば低い等電点を有するガラス等で形成することが望ましい。ただし、有機分子を吸着させる固体（アイランド）と囲い壁との距離が溶液中の有機分子の拡散距離（有機分子が溶液中で移動し得る距離）よりも十分に長い場合は、この限りではなく、他の材料で囲い壁を形成しても問題ない。

また、図24Aに示すように、シリコン基板81上に酸化シリコン（SiO₂）膜82を形成してもよい。次いで、図24Bに示すように酸化シリコン膜82上にアルミナ膜94を形成する。同様にレジストパターン95を形成した（図24C）後、エッチングを行い、アイランド96を得る（図24D）。アイランド96において、頂部のアルミナ膜94は、酸化シリコン膜82に支持される。また、上記工程において、シリコン基板上に形成する膜の材料を変えることにより、種々の組合わせの固体表面を有する装置を得ることができる。

図18A、18B、図20A、20Bまたは図22A、22Bに示す本発明の装置において、囲い壁86は必ずしも必要ない。装置の溶液と接触させる表面を撥水性にすれば、表面張力を利用して溶液をその表面上に保持することができる。

このような装置を用いて、たとえばタンパク質の結晶を調製するには、まず、装置を沈殿剤とともに容器内に保持する。たとえば、沈殿剤が貯留されている容器内の沈殿剤の液面より上方に位置するように装置を保持する。保持方法は、任意であるが、たとえば容器内にステージを設け、そのステージ上に装置を置けばよい。次に、装置表面の所定の場所にタンパク質溶液を滴下する。囲い壁を備えた装置の場合には囲い壁の中に、囲い壁のない装置の場合にはアイランドとその周辺を含む領域にタンパク質溶液を滴下する。そして、容器を密封して、結晶が十分に成長するまで冷暗所に保管すればよい。

目的とする高分子の等電点、溶液のpHと高分子の表面電位（ゼータ電位）との関係など、結晶化に重要な情報が明らかでない場合も多い。このような場合、溶液のpHをいくらにすればよいのか、第1の固体と第2の固体をどのような材料の組合せで形成すればよいのか、はっきりしない。そこで、本発明は、同時に
5 複数の条件下で結晶調製実験を行うことを可能にし、結晶化に最適な条件を探索するスクリーニングに適した装置を提供する。好ましくは、複数の条件を同時に設定するため、本発明による装置は、上述したような複数種の固体を有する部材を複数有するか、あるいは、結晶化部材において、複数種の固体の材料の組合せを複数種有する。そして、本発明は、複数の結晶化部材または複数種の結晶化領域を有する部材と、複数の貫通孔を有する部材とを組合せることにより、簡単な
10 構造で、多数の条件を同時にスクリーニングできる装置を提供する。本発明による装置では、多数の条件のいずれかで、好ましい結晶成長が起こり得る。

図25Aおよび図25Bに本発明による装置の好ましい具体例を示す。結晶調製用装置70は、第1の基板71と、5つの第2の基板72との組立体である。
15 この例の場合、第1の基板71が上述の複数の貫通孔を有する部材に相当し、5つの第2の基板が複数の結晶化部材に相当する。第1の基板71は、互いに離れて配置された25の円筒状貫通孔73を有する。貫通孔73が配列された各位置に、基板72が配置される。貫通孔73の1つの開口は、基板72によってふさがれ、他の開口は、開けられたままである。基板72によってふさがれた貫通孔
20 73は、結晶化すべき有機分子を含む溶液を保持する部分74を形成する。すなわち、基板71は前述の囲い壁の役割を果たす。各溶液保持部74は、結晶化テストのためのウェルとなる。基板72は、図26Aおよび26Bに示すような形状を有する。基板72は、1つの凸部75（アイランド）が2つの凹部76に挟まれた領域77を5つ有する。領域77は、貫通孔73の配列に対応して、配列
25 されている。後述するとおり、凸部75の表面と凹部76の表面とは、材質が異なり、そのため、両表面は、部分74に保持される溶液中で、異なる表面電位（ゼータ電位）を有する。また、凸部75の先端の表面は、それを挟む2つの凹部76の表面より、顕著に狭くなっている。図27に示すように、結晶化すべき高分子を含む溶液78は、部分74に保持される。この時、凸部75の表面と凹

部 7 6 の表面は、同時に溶液 7 8 に接触し、そして、両表面は、異なるゼータ電位を溶液 7 8 中で示し、上述したような高分子の選択的吸着を可能にする。すなわち、高分子をより強く静電的に吸着させ該高分子の結晶を成長させる表面を第 2 の表面と呼び、該高分子の吸着を阻害し、結晶化を抑制すべき表面を第 1 の表面と呼ぶと、凸部 7 5 の表面が第 2 の表面、凹部 7 6 の表面が第 1 の表面として機能する。

図 2 5 A および 2 5 B に示す装置において、5 つの基板 7 2 は、すべて同じであってもよいし、そのうちのいくつかは異なってもよいし、すべて異なっているもよい。たとえば、5 つの基板は、図 2 8 A ~ 2 8 E に示すような構造のいずれかを有することができる。図 2 8 A では、p 型シリコン基板 2 8 1 上に n^+ ドープ層 2 8 2 が形成されており、したがって、凸部の頂上の表面は n^+ ドープされたシリコンからなり、凹部の表面は p 型シリコンからなる。図 2 8 B では、n 型シリコン基板 2 8 3 上に p^+ ドープ層 2 8 4 が形成されており、したがって、凸部の頂上の表面は p^+ ドープされたシリコンからなり、凹部の表面は n 型シリコンからなる。図 2 8 C では、p 型シリコン基板 2 8 1 上に n^+ ドープ層 2 8 2 が形成されており、さらにその上に酸化シリコン層 2 8 5 が形成されており、したがって、凸部の頂上の表面は酸化シリコンからなり、凹部の表面は p 型シリコンからなる。この場合、 n^+ ドープ層 2 8 2 がなくともよい。図 2 8 D では、p 型シリコン基板 2 8 1 上に酸化シリコン層 2 8 5 が形成されており、さらにその上に窒化シリコン層 2 8 6 が形成されており、したがって、凸部の頂上の表面は窒化シリコンからなり、凹部の表面は p 型シリコンからなる。シリコン基板上に直接窒化シリコン層を形成すると剥がれやすいので、層の密着性を向上させるため、酸化シリコン層を形成している。図 2 8 E では、p 型シリコン基板 2 8 1 上に酸化シリコン層 2 8 5 が形成されており、さらにその上にアルミナ層 2 8 7 が形成されており、したがって、凸部の頂上の表面はアルミナからなり、凹部の表面は p 型シリコンからなる。この場合も、アルミナ層の密着性を向上させるため酸化シリコン層を下地として与えている。また、アルミナ層 2 8 7 を陽極酸化法によって形成する場合、酸化シリコン層 2 8 5 は、底部に残るアルミニウム膜とシリコン基板とを絶縁する役割も果たす。図 2 8 A ~ 2 8 E に示すような構造は、図

29A～29Cに示すような工程に従って形成することができる。まず、図29Aに示すように、基板91上に、基板91と導電型の異なる層、酸化シリコン層、窒化シリコン層、アルミナ層などの必要な層92を形成する。次いで、適当なマスクを使用するホトリソグラフィ法により、図29Bに示すとおり、層92上にレジストパターン93を形成する。次いで、エッチング、アッシング等を経て、図29Cに示すような構造を得る。このように、異なる表面電位が組合された領域は、シリコン基板表面に必要な層を形成し、エッチング等の一般的な処理を施すことにより、容易に得ることができる。

また、複数の貫通孔を有する基板（第1の基板）と組合せるべき、結晶化用の基板（第2の基板）は、上述の例の他に図30A～30Eのいずれかの構造を有することもできる。図30Aでは、基板121上に凸部またはアイランド122が形成される。たとえば、基板121は、シリコンであり、アイランド122は酸化シリコンである。また、アイランド全体を同じ材料で形成しなくともよい。例えば、図30Bでは、基板121上に形成されるアイランド123は、下地層123aと上層123bを有する。たとえば、基板121はシリコンであり、下地層123aは酸化シリコンであり、上層123bはアルミナまたは窒化シリコン等である。基板との密着性が悪い材料は、基板との密着性のよい中間層を介して積層するのが好ましい。図30Cでは、基板121上に他の材料の層124が形成され、その上にアイランド125が形成される。この場合、層124の表面（第1の表面）と、アイランド125の頂上表面（第2の表面）が、選択的結晶化に寄与する。たとえば、基板121はシリコンであり、層124は酸化シリコンであり、アイランド125の上層126はアルミナまたは窒化シリコン等である。基板上に必ずしも凸状のアイランドを形成する必要はない。図30Dでは、基板121上に他の材料の層124が形成され、層124の中に、それと異なる層127が形成される。層124の表面（第1の表面）と層127の表面（第2の表面）は、同一平面上にある。たとえば、基板121はシリコン、層124は酸化シリコン、層127はアルミナまたは窒化シリコン等である。図30Eでは、基板121に溝または孔128が形成され、その底部に他の材料層129が形成されている。このように凹部に結晶化のための領域を設けてもよい。しかし、特

定の表面（第2の表面）上に成長させた結晶を壊さずに容易に取り出すためには、結晶が当該表面に接触する面積が小さい方がよい。この点を考慮すると、結晶のサイズよりも小さい幅の頂部を有する凸状のアイランドが好ましい。なお、第2の基板をその断面が図30A～30Eに示されるような構造とした場合、上述の例と同様に図31Aにその平面図を示すように、複数の（図31Aにおいては5つの）第2の表面が互いに隔離して位置するような形状にすることができる。そして、図31Bに示すように第1の基板と接合することにより、上述の例と同様に結晶調製装置が作製される。なお、図30Dに示されるように第1の表面と第2の表面が同一平面上にある構造の第2の基板の場合は、第2の表面は必ずしも互いに隔離する必要はなく、長手方向に連続した形状でもよい。連続した形状であっても第1の基板と接合した際に、貫通孔によって自動的に隔離される。

また、貫通孔を有する基板と組合せるべき、5つの結晶化用基板として、次のようなものを使用してもよい。（1）第1の表面がp型シリコンで、第2の表面がアルミナである基板、（2）第1の表面がp型シリコンで、第2の表面が酸化シリコンである基板、（3）第1の表面p型シリコンで、第2の表面が窒化シリコンである基板、（4）第1の表面が酸化シリコンで、第2の表面が窒化シリコンであるの基板、および（5）第1の表面が酸化シリコンで、第2の表面がアルミナであるの基板。これらの基板において、アイランドの上面を第2の表面とし、アイランドに隣接するその他の表面を第1の表面とすることができる。

本発明によれば、貫通孔を有する基板（第1の基板）と、結晶化用基板（第2の基板）との組み合わせを変えて、目的に応じ、各種の結晶調製用装置を容易に作製できる。たとえば、図25Aおよび25Bに示すような装置に関し、上記5種類の第2の基板を1枚ずつ使用してもよいし、5種類のいずれかを複数枚使用してもよい。種類により枚数が異なってもよい。例えば、2種類を何枚かずつ使用してもよいし、1種類のみを複数枚使用してもよい。第2の基板は複数枚使用されるが、第1の基板のすべての貫通孔をふさがなくてもよい。第1の基板と組合せるべき第2の基板を適宜選択することにより、目的に応じた結晶調製用装置を容易に作製できる。

本発明において、1枚の第2の基板には、複数の結晶化領域が形成されている

ことが好ましい。例えば、図 2 6 A および 2 6 B に示す例では、基板に 5 つの結晶化領域が形成されている。図 2 6 A および 2 6 B に示す基板の 5 つの結晶化領域は、同じ構造を有する。しかし、第 2 の基板に形成される複数の結晶化領域は、異なる構造を有してもよい。すなわち、本発明において、複数種の表面の組合せは、複数の結晶化領域間で同じであっても、異なってもよい。図 2 5 A および 2 5 B に示す装置では、2 5 の結晶化用ウェルを提供する。従って、この装置の場合、最大で 2 5 種類（たとえば、5 種類の結晶化領域の構造（5 種類の第 2 の基板）× 5 種類のタンパク質溶液の条件）の異なる条件下で同時に結晶化実験が行える。2 5 のウェルのうち、結晶化領域の構造が同じ複数のウェル（同一または同じ種類の第 2 の基板上のウェル）では、p H、溶解するタンパク質の濃度等の条件を変えて、異なる条件下で結晶化実験を行うことができる。また、複数種のタンパク質溶液を、結晶化領域の構造が同じ複数のウェルにそれぞれ供給してもよい。たとえば、条件が異なる 5 種類のタンパク質溶液を供給できる。一方、結晶化領域の構造が異なる複数のウェル（異なる種類の第 2 の基板上のウェル）は、はじめから、異なる結晶化条件を提供する。構造が異なる複数のウェルには、同じ p H、または同じ濃度のタンパク質を供給することができる。

図 2 6 A および 2 6 B の基板のように、1 つの結晶化領域に 1 つのアイランドの表面（第 2 の表面）が与えられてもよいし、図 3 2 A および 3 2 B ならびに図 3 3 A および 3 3 B に示すように、1 つの結晶化領域に複数または複数種のアイランドの表面（第 2 の表面）が与えられてもよい。図 3 2 A および 3 2 B では、1 つの結晶化領域 1 3 0 に 4 つの離別したアイランドの表面 1 3 2 a ~ 1 3 2 d が与えられる。4 つの表面 1 3 2 a ~ 1 3 2 d の材料は、同じものであってもよいし、異なってもよい。図 3 3 A および 3 3 B では、1 つの結晶化領域 1 4 0 に 2 つの離別したアイランドの表面 1 4 2 a および 1 4 2 b が与えられる。2 つの表面 1 4 2 a および 1 4 2 b の材料は、同じものであってもよいし、異なってもよい。表面 1 4 2 a および 1 4 2 b の材料が異なる場合、基板 1 4 1 の表面と合わせて 3 種類の表面が、結晶化領域に与えられる。

未知の生体高分子の結晶を調製する場合、初めは第 2 の基板の種類をなるべく多くし、なるべく多くの物理的条件が存在する装置で結晶化実験を行うことがで

きる。その実験で、ある1つの第2の基板でのみ結晶の成長が確認された場合、次に、当該第2の基板のみを複数使用した装置を用い、溶液のpHや濃度をより細かく変えた多数の条件下で結晶化実験を行うことができる。この手順によって、より適切な条件を探索することができる。

- 5 例えば、図25Aおよび25Bに示す装置を使用する場合、まず初めに第2の基板72として、図28A～28Eに示される構造の基板または上記(1)～(5)に示される構造の基板を1枚ずつ用意し、第1の基板71と接合したものを使用する。その実験において、仮に基板28Dまたは基板(3)にのみ結晶成長が観測された場合、次に当該基板のみを5枚用意し、第1の基板71と接合した装置を使用する。そして、pHや濃度などの溶液の条件をより細かく変えて結晶化実験を行うことができる。
- 10

- 図34Aおよび図34Bに本発明による装置の好ましい他の具体例を示す。結晶調製用装置170は、第1の基板171と、第2の基板172との組立体である。第1の基板171が複数の貫通孔を有する部材に相当し、第2の基板172が複数種の結晶化領域を有する部材に相当する。第1の基板171は、互いに離れて配置された32の円筒状貫通孔173を有する。貫通孔173の1つの開口は、基板172によってふさがれ、他の開口は、開けられたままである。基板172によってふさがれた貫通孔173は、結晶化すべき材料を含む溶液を保持する部分174を形成する。各溶液保持部174は、結晶化テストのためのウェルとなる。基板172は、図35に示すような形状を有する。基板172は、1つの凸部175(アイランド)が2つの凹部176に挟まれた領域177を32有する。領域177は、貫通孔173の配列に対応して、配列されている。凸部175の頂部の表面と凹部176の表面とは、材質が異なり、そのため、両表面は、部分174において保持される溶液中で、異なる表面電位(ゼータ電位)を有する。凸部の上面が前述の第2の表面に相当し、凹部の表面が第1の表面に相当する。また、凸部175の先端の表面は、それを挟む2つの凹部176の表面より、顕著に狭くなっている。32の領域177は、2種類または3種類以上に分類される。すなわち、凸部175の表面の材料と凹部176の表面の材料との組合せは、32の領域177において、2種または3種以上存在する。たとえば、表面の
- 15
- 20
- 25

材料の組合せは、領域の列ごとに異なるものとすることができる。この場合、列の数、すなわち 8 種の組合せが存在する。一方、表面の材料の組合せは、行ごとに異なってもよく、この場合、4 種の組合せが存在する。また、左側 1 6 と右側 1 6 の 2 種に分類してもよいし、3 2 の領域がすべて互いに異なっているもよい。

5 このように、用途に応じて任意の態様で、異なる組合せを配置できる。表面の材料の組合せは、たとえば、図 2 8 A ~ 2 8 E、図 3 0 A ~ 3 0 E および上記 (1) ~ (5) に示される組合せより選択できる。図 3 5 に示す第 2 の基板も、図 2 9 A ~ 2 9 C に示すような膜形成、ホトリソグラフィー、エッチング等を経て、製造することができる。

10 図 3 6 に示すように、装置 1 7 0 において、結晶化すべき高分子を含む溶液 1 7 8 は、部分 1 7 4 に保持される。この時、凸部 1 7 5 の表面と凹部 1 7 6 の表面は、同時に溶液 1 7 8 に接触する。そして、両表面は、溶液 1 7 8 中で異なるゼータ電位に帯電し、上述したような高分子の選択的吸着を可能にする。

15 図 3 4 A および 3 4 B に示す装置も、構造が異なる複数種の結晶化領域を有するので、同時に複数の結晶化条件を提供する。この装置は、3 2 の結晶化用ウェルを提供する。従って、この装置の場合、最大で 3 2 種類の異なる条件下で同時に結晶化が行える。しかし、必ずしも全てのウェルを異なる条件にしなくてもよい。3 2 のウェルのうち、結晶化領域の構造が同じ複数のウェルでは、p H、溶解するタンパク質の濃度等の条件を変えて、異なる条件下で結晶化を行うことができる。また、複数種のタンパク質溶液を、結晶化領域の構造が同じ複数のウェルにそれぞれ供給してもよい。一方、結晶化領域の構造が異なる複数のウェルは、はじめから、異なる結晶化条件を提供する。構造が異なる複数のウェルには、同じ p H、または同じ濃度のタンパク質を供給することができる。この装置もまた、その性質が未知の生体高分子の結晶化を行う際、最適条件のスクリーニングに適している。

20

25

しかし、図 2 5 A および 2 5 B に示すように複数の第 2 の基板と第 1 の基板とを組み合わせる方が、汎用性および柔軟性の点で好ましい。また、結晶化領域の種類が少ない基板の方が、より低いコストで製造できる。1 枚のウエハに同種の第 2 の基板を多数作製することで、多数の基板の製作に必要な成膜、ホトリソグ

ラフイー、エッチング等の工程が少なくてすむ。

上述してきた装置に関し、複数の貫通孔を有する基板（第１の基板）は、ガラス、ポリカーボネート樹脂、アクリル樹脂等のプラスチック類、ステンレス鋼等の金属などからなる。第１の基板は、溶液中の高分子の吸着を阻害し得る材料、たとえば低い等電点を有するガラス等で形成することが好ましい。貫通孔は、レジストパターンを使用したエッチング、機械加工などにより基板に形成できる。また、原料の型成形等により、はじめから貫通孔を有する基板を得ることができる。結晶化領域を有する基板（第２の基板）は、半導体基板、特にシリコンウエハを用いて作製することが好ましい。シリコンウエハを用いれば、通常の半導体集積回路の製造技術を用いて、容易に複数種の表面を有する基板を作製することができる。すなわち、成膜技術、ホトリソグラフィ、エッチング、必要に応じて化学機械研磨（CMP）を用いて、容易に第２の基板を作製できる。基板上に形成される金属酸化物、金属窒化物等の層は、陽極酸化法、CVD等の蒸着などを使用して形成できる。

第１の基板と第２の基板は、分離可能に接合してもよいし、分離不能に接合してもよい。分離可能に接合する場合、特定の第２の基板を、第１の基板からはずし、他の第２の基板に置き換えることができる。この場合、１つの第１の基板に対し、より多くの第２の基板を試みることができる。第１の基板と第２の基板とは、陽極接合法、または接着剤により、接合、固定することができる。ガラス基板と半導体基板とを接合する場合、陽極接合法が好ましく用いられる。一方、接着力のそれほど強くないシール剤または接着剤を使用して、後に分離できるよう、第１の基板と第２の基板とを合わせてもよい。また、嵌め合いの構造によって、他の材料を介さずに第１の基板と第２の基板を合わせてもよい。

本発明によれば、第１の基板および第２の基板を含むキットも提供される。第１の基板に、適当な種類および／または数の第２の基板を組合わせて種々のキットを提供することができる。キットの使用者は、結晶の調製または結晶化のスクリーニングのため、適当な組合わせ体を適宜作製することができる。このようなキットの場合、１つの第１の基板と組合わされる第２の基板の数は任意である。第１の基板の貫通孔の数に関わらず、第２の基板を多数組合わせてもよい。すな

わち、第1の基板の貫通孔をすべてふさぐのに足る数よりも多い第2の基板を1つの第1の基板に組合わせてもよい。

また、二つの部材を組合せた本発明による装置は、たとえば沈殿剤を保持するためのウェルを有する第3の部材と組合せてもよい。図37Aおよび37Bは、
5 そのような装置の一例を示す。結晶成長用装置370は、図25Aおよび25Bに示す装置70に類似の構造を有する装置270と、それに接合された第3の基板380とを有する。第3の基板380は、ガラス製またはプラスチック製である。第3の基板380に形成された複数の窪みは、沈殿剤を収容するためのウェル381である。装置270は、第1の基板271と、5つの第2の基板272
10 との組立体である。第1の基板271は、互いに離れて配置された25の円筒状貫通孔273を有する。貫通孔273が配列された各位置に、基板272が配置される。貫通孔273の1つの開口は、基板272によってふさがれ、他の開口は、開けられたままである。基板272によってふさがれた貫通孔273は、結晶化すべき有機分子を含む溶液を保持する部分274を形成する。各溶液保持部
15 274は、結晶化テストのためのウェルとなる。基板272は、図26Aおよび26Bに示すような形状を有する。さらに、第1の基板271は、第3の基板380の各ウェル381に対向する位置に、貫通孔382を有する。各貫通孔382は、第1の基板271において、第2の基板272が接合されない部分に設けられている。第2の基板272と第3の基板380とは、たとえば、陽極接合法
20 により結合することができる。沈殿剤は、貫通孔382を介して、ウェル381に供給することができる。

図37Aおよび37Bの装置の使用例を図38および39に示す。図38において、結晶化すべきタンパク質を含む溶液278は、溶液保持部274に収容され、沈殿剤386は、第3の基板380のウェル381に収容されている。結晶
25 成長用装置370は、ガラス蓋383で覆われ、溶液278および沈殿剤386は、密閉された空間に置かれる。図38では、一つのウェルに収容される沈殿剤の影響は、装置全体に及び得る。一方、図39では、結晶成長装置370を覆うガラス蓋385は、仕切り384を有している。仕切り384により、各溶液保持部274は、互いに独立した状態に維持される。すなわち、仕切り384によ

り、結晶化のための複数のコンパートメントが形成される。各コンパートメントは、溶液保持部 274、ウェル 381 および貫通孔 382 を有する。保持部 274 に收容される溶液 278 は、その直近のウェル 381 に保持される沈殿剤 386 からしか影響を受けない。したがって、沈殿剤の種類をウェルごとに変えれば、装置 370 の各列ごとで異なる結晶化の条件を作ることができる。

本発明による装置は、溶液の pH を測定するための手段を含むことができる。上述したように固体の表面および分離すべき有機分子の表面電位または実効表面電荷は、溶液の pH に左右されるため、分離または結晶化の操作において、溶液の pH をモニタすることは、有意義である。pH 測定手段には、通常の pH メーター、イオン感応性電界効果型トランジスタ (ISFET) と基準電極を組合せた従来型の pH センサー等を用いることができる。

一方、pH 測定手段として、図 40 に示すような装置を用いてもよい。pH 測定装置 100 において、n 型シリコン基板 101 上には SiO_2 膜 102 が形成されている。基板 101 上には溶液保持部 110 が設けられる。溶液保持部 110 は、溶液 105 の流れを堰きとめる囲い壁 106 および SiO_2 膜 102 から構成される。囲い壁 106 上には金属電極 107 が設けられる。金属電極 107 は、 SiO_2 膜 102 の方に延びていて、溶液保持部 110 内に保持される溶液と接触するように配置される。シリコン基板 101 の裏面 (SiO_2 膜 102 が設けられた面と対向する面) には、端子電極 108 が設けられる。

酸化物の表面は、上述したように水和反応を起こして、水酸基を生成させる。その水酸基の解離によって酸化物表面に電荷が生じる。したがって、酸化物の表面には、溶液の pH に応じた表面電位が発生する。たとえば、 SiO_2 の場合、以下のような解離がおこり、その表面電位は pH によって変化する。



低 pH

等電点

高 pH

他の酸化物でも同様な機構により表面電位が生じ、酸化物の種類に応じて等電点や発生する電位の値は異なる。なお、 SiO_2 の等電点はおよそ 1.8 ~ 2.8 である。また、詳細な機構は分からないが、窒化物の表面にも酸化物と同様に水溶液中でその水溶液の pH に応じた電位が発生する。たとえば、 Si_3N_4 の場

合は等電点がおよそ4～5程度であって、それより低いpHで正の表面電位を、それより高いpHで負の表面電位を帯びる。このため、絶縁層としてSiO₂膜のかわりにSi₃N₄膜等の窒化物膜を用いてもよい。

したがって、図40に示す装置100において、SiO₂膜102が露出した溶液保持部110に水溶液を入れると、SiO₂膜102の表面にその水溶液のpHに応じた電位が発生する。この電位によって、酸化膜を介して設けられるシリコン基板表面のキャリア濃度が変化する。したがって、シリコン基板101の溶液105に近い部分に形成される空乏層109の容量が変化する（空乏層の幅が変化する）。したがって、MOS（MIS）に相当する構造を有する装置100において、金属電極107と端子電極108との間の容量電圧特性（高周波特性）は、溶液105のpHに応じて変化する。この変化を、図41に示す。図41は、pHの異なる2種の溶液に関して容量電圧特性を示している。容量電圧特性は、図に示すようにpHに応じて電圧軸方向に変化する。

あらかじめ、図40に示すpH測定装置を用いて、測定周波数1MHz程度で、pHの分かっている種々の溶液の容量電圧特性を測定し、pH値とフラットバンド電位（V_{FB}）との関係を得ることができる。pH値とフラットバンド電位（V_{FB}）は、たとえば図42に示すような関係を有する。この関係に基づいて、未知の溶液のpHが求められる。すなわち、pH測定装置100をC-VメーターおよびC-Vレコーダーに接続する。次いで、溶液保持部110に測定すべき溶液を入れ、電極107と108との間のC-V特性を測定し、V_{FB}を求める。得られたV_{FB}と、予め得られたpH値とフラットバンド電位（V_{FB}）との関係から、当該溶液のpHが決定される。

このpH測定装置において、n型Si基板の代わりにp型Si基板を用いてもよいし、他の半導体基板、たとえば、Ge基板やGaAs等の化合物半導体基板を用いてもよい。また、SiO₂膜の代わりに他の酸化膜たとえばAl₂O₃膜、TiO₂膜を用いてもよいし、Si₃N₄等の窒化物膜を用いてもよい。絶縁層の厚みは、たとえば100Å～1μmであり、好ましくは500Å～3000Åである。電極用の材料には、Pt、Pd、Au等を用いることができる。

このpH測定装置は、極めて単純な構造（MOS（MIS）構造）を有し、通

常の半導体加工技術（リソグラフィー、CVD、エッチング等）を用いて簡単に製作できる。当該装置の溶液保持部にピペットなどで溶液を滴下し、数 μ l～数十 μ lの微量の溶液についてpHを測定できる。この装置は、シリコン基板上に作製することができ、したがって、本発明による分離装置と同じ基板上に作り込むことができる。たとえば、図25Aおよび25Bに示されるような装置の場合、5枚の第2の基板72のうちの1枚にこのpH測定装置を作り込むことができる。

このような装置を用いてタンパク質溶液のpHをモニタしながらタンパク質の結晶を調製する場合は、図43に示すように、装置230の各ウェルにタンパク質溶液を供給し、各ウェルを透明なガラスの蓋200で密封し、冷暗所に保管する。各ウェルでの結晶成長の様子は、透明な蓋の上から顕微鏡により観察できる。その際、図に示すように、pHモニター用セルの電極にC-Vメーター201を接続し、X-Yレコーダー202でC-V特性を測定する。これにより、結晶成長中の溶液のpHをモニターできる。

本発明の装置を用いて、有機分子の結晶、例えば蛋白質の結晶を調製するには、装置の各ウェルに蛋白質溶液を供給し、溶液が供給された装置を沈殿剤とともに密封すればよい。沈殿剤は別の容器に入れて結晶成長用装置と並べて置けばよい。pHモニタは、必ずしも必要ではないが、同一の基板上に結晶成長用ウェル、pHモニター用セル、沈殿剤用セルを作製し、1チップとした方が、使い勝手がよく好ましい。このような1チップ化した装置は、前述のように半導体装置の一般的な製造プロセスを用いて容易に作製できる。

例1

図44および図45に示すような装置を作製した。装置130は、シリコン基板131を含む基台部141と、それに接合されたパイレックスガラス製の溶液保持プレート（囲い壁）142とを有する。基台部141のサイズは、15mm×15mmである。基台部141とプレート142とによって、2つの結晶成長用セル132aおよび132b、1つの沈殿剤用セル133、ならびに1つのpHモニター用セル134が形成される。プレート142のサイズは、12mm×12mmであり、高さは0.5mmである。シリコン基板131の表面は、シリコン酸化膜135で被覆されている。セル132a、132bおよび134は、

直径約4 mmの円筒形または円錐台形であり、セル133は、5.5 mm×5.5 mmの角柱形である。結晶成長用セル132aおよび132b、ならびにpHモニター用セル134内には、シリコン酸化膜135上にアルミナのアイランド136が複数形成されている。アイランド136は、図47Aおよび図47Bに示すような線状であり、その幅は約100 μm〜200 μmである。また、隣り合うアイランド間の距離は、約0.2 mm〜1 mmである。セル内の場所またはセルによって、このアイランド間の間隔は、異なっている。たとえば、セル132aには、図47Aに示すようなパターンのアイランドが形成され、セル132bには、図47Bに示すようなパターンのアイランドが形成される。プレート142のpHモニター用セル134の部分には、電極144が形成され、シリコン基板131の裏面にも電極145が形成される。図46に示すように電極144は、Ti層144aおよびPt層144bを有する二層構造となっている。電極144上には、外部との接続用の端子146が設けられる。シリコン基板131、シリコン酸化膜135、電極144、および電極145によりpHセンサー部が構成される。図44および45に示す装置において、pHモニター用セル134内のアイランド136は必ずしも必要でない。さらに、シリコン基板131の裏面で結晶成長用セルに対向する位置には、必要に応じてセル132aおよび132bを加熱するための発熱素子147が設けられる。発熱素子は、溶液を加熱し、結晶の成長を制御する。

図48は、好ましい発熱素子の一具体例を示す。発熱素子164において、基材161上には、パッド165aおよび165bが形成される。パッド165aと165bとの間には、コンパクトに折り畳まれた電熱線167が設けられる。パッド165aおよび165bならびに電熱線167は、基材161上に形成された薄膜である。基材161には、シリコン基板やガラス基板等を用いることができる。パッド165aおよび165bは、アルミニウム、銅等の良導体からなる薄膜であり、電熱線167は、Cr、Fe-Cr-Al系合金、Ni-Cr系合金等の電熱材料からなる薄膜である。電熱線167の隣には、温度測定用の抵抗線168が設けられる。抵抗線168の両端には、パッド165cおよび165dが設けられる。パッド165cおよび165dは、アルミニウム、銅などの

良導体からなる薄膜であり、抵抗線 168 は、Cr、銅マンガン合金、銅ニッケル合金などの抵抗材料からなる薄膜である。厳密な温度管理が必要な場合、図 48 に示すように電熱線の隣に温度測定用の抵抗線を設けることが好ましい。たとえば、電熱線 167 の厚みは、 $0.1\mu\text{m} \sim 1.0\mu\text{m}$ であり、パッド 165 a ~ 165 d の厚みは、 $0.5\mu\text{m} \sim 2.0\mu\text{m}$ である。電熱線 167 の幅は、たとえば $50\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$ である。一方、発熱素子の温度を正確に測定するため、抵抗線 168 の熱容量はできるだけ小さくすることが望ましい。したがって、抵抗線 168 のサイズは、必要な範囲でできるだけ小さくすることが望ましい。たとえば抵抗線 168 の幅は、 $10\mu\text{m}$ 以下が好ましく、たとえば $1 \sim 10\mu\text{m}$ である。抵抗線 168 の厚みは、 $0.3\mu\text{m}$ 以下が好ましく、たとえば $0.1 \sim 0.3\mu\text{m}$ である。

図 44 に示す装置の基台部は、半導体装置の一般的な製造プロセスを使用して、シリコンウェーハ上に一度に多数作製することができる。たとえば、図 49 A に示すように、まず、シリコンウェーハ 181 の表面に熱酸化によって約 200nm の厚みのシリコン酸化膜 182 を形成する。次に、シリコン酸化膜 182 上に、スパッタリング、CVD 等によりアルミナ膜を形成するか、スパッタリングまたは蒸着により形成したアルミニウム膜を酸化して、図 49 B に示すように、厚み約 $3 \sim 5\mu\text{m}$ のアルミナ膜 184 を形成する。このアルミナ膜 184 は、もう少し薄くてもよく $1\mu\text{m}$ 程度でもよい。次いで、図 49 C に示すように、通常のホトリソグラフィに従ってアルミナ膜 184 上にレジストパターン 185 を形成する。通常用いられレジストをマスクとするエッチングにより、アイランド部のみを残してアルミナ膜を除去する。かくして、図 49 D に示すように、シリコン酸化膜 182 上にアルミナのアイランド 184' が形成される。その後、シリコンウェーハを切断（スクライビング）し、得られたチップに電極 185 および必要に応じ発熱素子 187 を設けて、多数の基台部を得る（図 49 E）。

溶液保持プレートも、一般的なエッチング技術およびスパッタリング技術を用いて、たとえば図 50 A ~ 図 50 F に示すように作製される。まず、図 50 A に示すように、パイレックスガラス板 191 の表面に所定のパターンでレジストマスク 192 を形成する。次いで、フッ酸によるウェットエッチングまたはダイヤ

モンドブラスト法を行なって貫通孔 193a および 193b をガラス板 191 に形成する (図 50B)。次に、pH モニタ用セルとなるべき貫通孔 193a 以外の場所を SUS 板のハードマスク 194a で覆い、スパッタリングによって Ti / Pt 膜 195 を形成する (図 50C)。その後、必要な部分をハードマスク 194b で覆い、スパッタリングにより接続用の Au 端子 196 を形成する (図 50D)。かくして、図 50E に示すような電極部 197 を有する溶液保持プレート 198 が得られる。得られたプレートを、図 49A ~ 49E に示すプロセスにより得られた基台部に、陽極接合などにより結合し、装置が得られる (図 50F)。

図 44 に示す装置 130 において、次のような方法により、タンパク質の結晶を調製する。まず、結晶成長用セルと pH モニター用セルに、目的とするタンパク質が溶解した溶液 (母液) をたとえば約 $10\mu\text{l}$ 滴下する。溶液中のタンパク質の濃度は $10\sim 50\text{mg/ml}$ 程度である。最適な濃度は目的とするタンパク質の種類によって異なる。未知のタンパク質の結晶化を行なう場合、濃度を変えた複数種の溶液を調製し、それらについて、装置を複数用意し、同時に結晶成長を行なえばよい。このとき、溶液の pH は、タンパク質およびシリコン酸化物の等電位点より高く、アルミナの等電位点よりも低くなるように調整する。溶液の pH の調整は、緩衝溶液の添加により行なう。シリコン酸化物の等電位点は約 2 であり、アルミナのそれは約 9 である。したがって、たとえば、目的とするタンパク質の等電位点が約 7 である場合、溶液の pH を約 8 に調整する。こうすれば、タンパク質およびシリコン酸化膜の表面電位は負となり、アルミナの表面電位は正となる。溶液の最適な pH も、目的とするタンパク質により異なる。したがって、pH を変えた複数種の溶液を調製し、これらについて同時に結晶化を行なうことが好ましい。また、沈殿剤用セルに沈殿剤を入れる。沈殿剤には、たとえば 1M の NaCl 溶液 2ml と pH が 4.6 の標準緩衝溶液 2ml とを混合したものを用意し、それを沈殿剤用セルに約 $20\mu\text{l}$ 滴下する。

図 51 に示すように、装置 130 のセルを透明なガラスの蓋 200 で密封し、冷暗所に約 100 時間保管する。タンパク質分子は、静電的な引力により、アルミナのアイランド部に集められ、固定される。アイランド部でタンパク質の結晶

核が形成され、結晶成長が進む。結晶成長の様子は、透明な蓋の上から顕微鏡により観察される。その際、図51に示すように、pHモニター用セルの電極にC-Vメーター201を接続し、X-Yレコーダー202でC-V特性を測定する。これにより、結晶成長中の溶液のpHがモニターされる。溶液のpHは、事前に調整してあるものの、結晶成長中に変化し得る。タンパク質の結晶性は、溶液のpHの微妙な変化に影響され得る。したがって、実際に結晶が成長していく過程においてpHの微妙な変化を把握することは重要である。

本発明の装置を結晶調製用装置として適用する場合は、結晶成長用セルを少なくとも1つ有していればよい。沈殿剤は別の容器に入れて結晶調製用装置と並べて置いてもよく、pHモニターも必ずしも必要ではない。

また、より多い数のセルを有する装置を用いれば、より多くの条件下（含有するタンパク質の濃度やpHなどの条件を変えた複数種の母液）で、同時に結晶化の実験を行なうことができる。たとえば、図52に示す装置は、この要求に答えることができる。装置210は、9つの結晶成長用セル211～219、1つのpHモニター用セル221および2つの沈殿剤用セル231および232を有する。タンパク質の濃度を変えた複数種の母液を用いて、結晶化を行うような場合には、装置210のように複数の結晶成長用セルに対してpHモニター用セルは1つあればよいが、pHを変えた複数種の母液を用いる場合には、結晶成長用セルと同数のpHモニター用セルを有することができる。また、pHをモニターする必要がない場合は、沈殿剤用セルを除いて、すべてを結晶成長用セルにすることもできる。また、各セルに異なる幅を有する複数のアイランドを設けてもよいし、セルごとにアイランドの幅を変えてもよい。

例2

アルミナを多孔性とした以外は、例1と同様の装置を作製した。すなわち、図44および図45に示す装置130において、結晶成長用セル132aおよび132b、ならびにpHモニター用セル134内には、シリコン酸化膜135上に多孔性アルミナのアイランド136が複数形成されている。その他の構造は、例1と同様である。

装置の基台部は、半導体装置の一般的な製造プロセスを使用して、シリコンウ

ェーハ上に一度に多数作製することができる。たとえば、図5 3 Aに示すように、まず、シリコンウェーハ1 8 1の表面に熱酸化によって約2 0 0 n mの厚みのシリコン酸化膜1 8 2を形成する。次に、図5 3 Bに示すように、シリコン酸化膜1 8 2上にスパッタリングまたは蒸着により厚み約3 ~ 5 μ mのアルミニウム膜1 8 4を形成する。その後、陽極酸化法を用いてアルミニウム膜1 8 4を酸化し、図5 3 Cに示すように、アルミナ層1 8 6を形成する。このとき得られるアルミナ層1 8 6は、微細な凹凸が配列された多孔性の表面を有する。次いで、図5 3 Dに示すように、通常のホテルソングラフイーに従ってアルミナ層1 8 6上にレジストパターン1 8 5を形成する。通常用いられるレジストをマスクとするエッチングにより、アイランド部のみを残してアルミナ層を除去する。かくして、図5 3 Eに示すように、シリコン酸化膜1 8 2上に多孔性アルミナのアイランド1 8 6' が形成される。その後、シリコンウェーハを切断（スクライビング）し、得られたチップに電極1 8 5および必要に応じ発熱素子1 8 7を設けて、多数の基台部を得る（図5 3 F）。

15 溶液保持プレートも、一般的なエッチング技術およびスパッタリング技術を用いて、たとえば図5 4 A ~ 図5 4 Fに示すように作製される。まず、図5 4 Aに示すように、パイレックスガラス板1 9 1の表面に所定のパターンでレジストマスク1 9 2を形成する。次いで、フッ酸によるウェットエッチングまたはダイヤモンドブラスト法を行なって貫通孔1 9 3 aおよび1 9 3 bをガラス板1 9 1に形成する（図5 4 B）。次に、p Hモニタ用セルとなるべき貫通孔1 9 3 a以外の場所をS U S板のハードマスク1 9 4 aで覆い、スパッタリングによってT i / P t膜1 9 5を形成する（図5 4 C）。その後、必要な部分をハードマスク1 9 4 bで覆い、スパッタリングにより接続用のA u端子1 9 6を形成する（図5 4 D）。かくして、図5 4 Eに示すような電極部1 9 7を有する溶液保持プレート1 9 8が得られる。得られたプレートを、図5 3 A ~ 5 3 Fに示すプロセスにより得られた基台部に、陽極接合などにより結合し、装置が得られる（図5 4 F）。

25 本例でも、例1と同様のプロセスにより、タンパク質の結晶を調製する。まず、結晶成長用セルとp Hモニター用セルに、目的とするタンパク質が溶解した溶液

(母液)をたとえば約 $10\mu\text{l}$ 滴下する。溶液中のタンパク質の濃度は $10\sim 50\text{mg/ml}$ 程度である。最適な濃度は目的とするタンパク質の種類によって異なる。未知のタンパク質の結晶化を行なう場合、濃度を変えた複数種の溶液を調製し、それらについて、装置を複数用意し、同時に結晶成長を行なえばよい。こ

- 5 のとき、溶液のpHは、タンパク質およびシリコン酸化物の等電位点より高く、アルミナの等電位点よりも低くなるように調整する。溶液のpHの調整は、緩衝溶液の添加により行なう。シリコン酸化物の等電位点は約2であり、アルミナのそれは約9である。したがって、たとえば、タンパク質の等電位点が7である場合、溶液のpHを約8に調整する。こうすれば、タンパク質およびシリコン酸化
- 10 膜の表面電位は負となり、多孔性アルミナの表面電位は正となる。溶液の最適なpHも、目的とするタンパク質により異なる。したがって、pHを変えた複数種の溶液を調製し、これらについて同時に結晶化を行なうことが好ましい。また、沈殿剤用セルに沈殿剤を入れる。沈殿剤には、たとえば1MのNaCl溶液2m
- 15 1とpHが4.6の標準緩衝溶液2m1とを混合したものを用意し、それを沈殿剤用セルに約 $20\mu\text{l}$ 入れる。

図51に示すように、装置130のセルを透明なガラスの蓋200で密封し、冷暗所に約100時間保管する。タンパク質分子は、静電的な引力により、アルミナのアイランド部に集められ、固定される。アイランド部でタンパク質の結晶核が形成され、結晶成長が進む。結晶成長の様子は、透明な蓋の上から顕微鏡に

20 より観察される。その際、図51に示すように、pHモニター用セルの電極にC-Vメーター201を接続し、X-Yレコーダー202でC-V特性を測定する。これにより、結晶成長中の溶液のpHがモニターされる。溶液のpHは、事前に調整してあるものの、結晶成長中に変化し得る。タンパク質の結晶性は、溶液のpHの微妙な変化に影響され得る。したがって、実際に結晶が成長していく過程

25 においてpHの微妙な変化を把握することは重要である。

例3

また、図44および図45に示すような装置を作製した。装置130において、シリコン酸化膜135上に形成されるアルミナのアイランド136は、約 $50\mu\text{m}$ の幅を有する。その他の構造は、例1と同様である。装置は、例1と同様のプ

ロセスによって作製される。例1と同様の方法により、タンパク質の結晶を調製する。まず、結晶成長用セルとpHモニター用セルに、目的とするタンパク質が溶解した溶液（母液）をたとえば約10 μ l滴下する。溶液中のタンパク質の濃度は10～50mg/ml程度である。最適な濃度は目的とするタンパク質の種類によって異なる。未知のタンパク質の結晶化を行なう場合、濃度を変えた複数種の溶液を調製し、それらについて、装置を複数用意し、同時に結晶成長を行なえばよい。このとき、溶液のpHは、タンパク質およびシリコン酸化物の等電位点より高く、アルミナの等電位点よりも低くなるように調整する。溶液のpHの調整は、緩衝溶液の添加により行なう。シリコン酸化物の等電位点は約2であり、アルミナのそれは約9である。したがって、たとえば、目的とするタンパク質の等電位点が約7である場合、溶液のpHを約8に調整する。こうすれば、タンパク質およびシリコン酸化膜の表面電位は負となり、アルミナの表面電位は正となる。溶液の最適なpHも、目的とするタンパク質により異なる。したがって、pHを変えた複数種の溶液を調製し、これらについて同時に結晶化を行なうことが好ましい。また、沈殿剤用セルに沈殿剤を入れる。

図51に示すように、装置130のセルを透明なガラスの蓋200で密封し、冷暗所に約100時間保管する。タンパク質分子は、静電的な引力により、アルミナのアイランド部に集められ、固定される。アイランド部でタンパク質の結晶核が形成され、結晶成長が進む。結晶成長の様子は、透明な蓋の上から顕微鏡により観察される。その際、図51に示すように、pHモニター用セルの電極にC-Vメーター201を接続し、X-Yレコーダー202でC-V特性を測定する。これにより、結晶成長中の溶液のpHがモニターされる。溶液のpHは、事前に調整してあるものの、結晶成長中に変化し得る。タンパク質の結晶性は、溶液のpHの微妙な変化に影響され得る。したがって、実際に結晶が成長していく過程においてpHの微妙な変化を把握することは重要である。

例4

牛膵臓製カタラーゼ (Catalase from Bovine Pancreas) 懸濁液を同量のpH 8.0のリン酸塩緩衝液に溶解した。得られた溶液をシリコン結晶を使用した装置の表面に滴下して、シッティングドロップ法と類似の方法により結晶化を行っ

た。結晶成長用装置には、以下の２種類を用いた。

(１) 約 $20 \Omega \cdot \text{cm}$ の比抵抗を有する P 型シリコン基板表面に、約 $1 \mu\text{m}$ の厚みのアルミナ皮膜を形成した。その後、図 23A～23D に示すように選択的エッチングを行い、アルミナのアイランドを形成した。エッチングにより得られたアイランドの幅は約 $50 \mu\text{m}$ であった。アイランドが形成されたシリコン基板を縦 15mm 、横 15mm のサイズに切断し、結晶成長用装置を得た。

(２) エッチングにより得られるアルミナ製アイランドの幅を約 1mm とした以外は、(１) と同様にして結晶成長用装置を得た。

(１) および (２) の装置において、シリコン基板表面およびアイランドの表面を覆うように、カタラーゼを含む液 $30 \mu\text{l}$ を滴下し、 5°C の冷暗所で保管した。冷暗所に 1 週間保管した後、装置を顕微鏡で観察した。両方の装置のアイランド表面に、カタラーゼの結晶が析出しているのを確認した。観察された結晶の平均径は約 0.1mm であった。

それぞれの装置においてアイランド表面上で成長した結晶を、溶液とともにピペット内に吸い取り、次いでピペットから溶液を直径約 1mm のガラス製キャピラリーに移して封印しようとした。(１) の装置では、結晶を容易にピペットに吸い込むことができ、キャピラリーに結晶を封入することができた。一方、

(２) の装置では、結晶をピペットに吸い込むことがそれほど容易ではなく、無理に結晶をピペットに吸い込もうとすると、結晶が破壊されることがあった。

例 5

図 25A および 25B に示す装置を用いて結晶化を行った。装置において、第 1 の基板は、約 $5 \text{cm} \times 3 \text{cm}$ のサイズを有し、直径約 4mm の貫通孔が 25 個形成された、厚さ約 1mm のパイレックスガラス板であった。5 つの第 2 の基板は、それぞれ以下の (A) ～ (E) であり、それぞれ、図 28A～28E に示す構造を有する。第 1 の基板と 5 つの第 2 の基板とは、陽極接合した。

(A) 約 $100 \Omega \cdot \text{cm}$ の比抵抗の p 型シリコン表面に約 $5 \mu\text{m}$ の深さで n^+ ドープ層を形成した基板。

(B) 約 $10 \Omega \cdot \text{cm}$ の比抵抗の n 型シリコンの表面に約 $5 \mu\text{m}$ の深さで p^+ ドープ層を形成した基板。

(C) 約 $100\ \Omega\text{cm}$ の比抵抗の p 型シリコン表面に約 $5\ \mu\text{m}$ の深さで n^+ ドープ層を形成し、さらにその上に約 100nm の厚みの SiO_2 層を形成した基板。

(D) 約 $100\ \Omega\text{cm}$ の比抵抗の p 型シリコン表面に約 100nm の厚みで SiO_2 層を形成し、さらにその上に約 100nm の厚みの Si_3N_4 層を形成した基板。

(E) 約 $100\ \Omega\text{cm}$ の比抵抗の p 型シリコン表面に約 100nm の厚みで SiO_2 層を形成し、さらにその上に陽極酸化法によって約 $10\ \mu\text{m}$ の厚みのアルミナ層を形成した基板。

(A) ~ (E) 基板において、エッチングにより形成された凹部の深さは約 $100\ \mu\text{m}$ であり、タンパク質溶液と接触するシリコン表面の面積は約 15mm^2 、凸部上面の面積は約 0.3mm^2 であった。図に示すように各基板には結晶化領域が 5 つ設けられている。

結晶化すべきタンパク質としてウシ肝臓カタラーゼを用いた。緩衝溶液には、以下の 3 種類を使用した。

- (1) pH 5.2 : 0.1M クエン酸 - 0.1M Na_2HPO_4
- (2) pH 8.0 : 0.1M Na_2HPO_4 - 0.1M KH_2PO_4
- (3) pH 11.0 : 0.05M ホウ酸 - 0.05M KCl - 0.05M Na_2CO_3

これらの緩衝溶液で濃度 30mg/ml のカタラーゼ溶液を調製し、得られた溶液を $10\ \mu\text{l}$ ずつ装置の各ウェルに滴下した。さらに各ウェルに NaCl を添加して、その濃度を 0.1M とした。装置をカバーで覆い、各ウェルを 0.5M の NaCl を含む沈殿剤とともに密閉し、 4°C の温度で 10 日間放置した。その結果、pH 8.0 のサンプルでのみ、基板 (E) の表面に、約 0.5mm のサイズの結晶が析出していることが確認された。

産業上の利用の可能性

本発明によれば、特定の固体表面に選択的に有機分子を吸着させ、それによって、対流の有機分子への影響を低減し、有機分子の結晶核の形成を安定化させることができる。さらに、本発明によれば、特定の固体表面に選択的に成長させた

結晶を容易に取出すことができる。また本発明によれば、微結晶の大量生成を抑制または制御することができ、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる。さらに本発明によれば、多数の固体表面を結晶化に用いることによって、あらゆる種類の有機分子の結晶化に対応することができる。また、本発明
5 5では、極微量の試料について結晶化を行なうことができる。さらに、本発明は、より多くの結晶化のための条件を、簡単な構造の装置において作ることができる。

本発明は、製薬産業や食品産業等において、種々の高分子化合物、特に高分子電解質を精製または結晶化するために用いることができる。本発明は特に、酵素
10 10および膜タンパク質等のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、ポリサッカライド、核酸、ならびにこれらの複合体および誘導体等を精製または結晶化させるため好ましく適用される。特に本発明は、生体高分子の精製または結晶化のため好ましく適用される。

また本発明の装置は、溶液中で帯電する生体関連物質等を特定の領域に吸着および固定することができる。したがって、バイオセンサ、バイオセンサによる各
15 15種生体組織および生体物質の測定装置への応用等が可能である。

請 求 の 範 囲

1. 溶液中に含まれる帯電した物質を前記溶液から分離するための装置であって、
金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた互いに実質的に異なる材料からなる複数種の固体を備え、
5 前記複数種の固体の表面は、同時に前記溶液に接触するよう配置されており、かつ
前記複数種の固体の表面は、前記溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有するものであり、それにより、
10 前記複数種の固体のいずれかの表面に、前記物質をより強く静電的に吸着させるようになっている、帯電した物質の分離装置。
2. 前記複数種の固体のうち少なくとも1種は多孔性の表面を有する、請求項1に記載の装置。
3. 前記多孔性の表面を有する固体の表面は、残りの固体の表面と異なる表面電位またはゼータ電位を有し、かつ前記多孔性の表面に、前記物質をより強く静電的に吸着させるようになっている、請求項2に記載の装置。
15
4. 前記多孔性の表面は、前記物質のサイズと略同等またはそれ以下の孔径を有する孔を主として有する、請求項2または3に記載の装置。
5. 前記多孔性の表面を有する固体の材料はアルミナである、請求項2～4のいずれか1項に記載の装置。
20
6. 前記複数種の固体の表面上で前記溶液を保持するための囲い壁をさらに備える、請求項1～5のいずれか1項に記載の装置。
7. 前記複数種の固体は、所定の領域において互いに隣合うよう配置され、かつ
前記所定の領域において、前記物質をより強く静電的に吸着させる固体の表面
25 が占める面積は、残りの固体の表面が占める面積以下である、請求項1～6のいずれか1項に記載の装置。
8. 前記複数種の固体は、同一の基板上に形成されている、請求項1～7のいずれか1項に記載の装置。
9. 前記基板が半導体基板である、請求項8に記載の装置。

10. 前記複数種の固体を与える材料は、積層構造を有し、

前記積層構造において、上層に位置する材料は、下層に位置する材料上の複数の位置に、間隔をあけて設けられていることを特徴とする、請求項1～9のいずれか1項に記載の装置。

5 11. 溶液中に含まれる帯電した物質を前記溶液から分離するための装置であって、

前記装置は、前記溶液と接触するための表面を有し、

前記表面は、複数の領域を有し、

10 前記複数の領域のそれぞれは、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた互いに実質的に異なる材料の露出した表面であり、

前記複数の領域は、前記溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位に帯電し、

前記複数の領域のいずれかに、前記帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている、分離装置。

15 12. 溶液中に含まれる帯電した物質を前記溶液から分離するための装置であって、

第1の固体と、

第2の固体とを

備え、

前記第1の固体は、半導体基板であり、

20 前記第2の固体は、前記第1の固体上に形成される半導体化合物製のアイランドまたは金属化合物製のアイランドであり、

前記第1の固体の表面および前記第2の固体の表面は、前記溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位に帯電するものであり、それにより、前記第2の固体の表面に前記帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている、分離装置。

25

13. 前記半導体基板がシリコン基板である、請求項12に記載の装置。

14. 前記アイランドの少なくとも頂部の材料は、シリコン酸化物、シリコン窒化物、金属酸化物または金属窒化物のいずれかである、請求項12または13に記載の装置。

15. 前記アイランドの頂部の幅は $10\mu\text{m}$ ～ $200\mu\text{m}$ である、請求項12～14のいずれか1項に記載の装置。

16. 前記アイランドを囲むように前記第1の固体表面上に設けられた、前記溶液を保持するための囲い壁を有する、請求項12～15のいずれか1項に記載の装置。

17. 前記囲い壁で取り囲まれた領域において、前記第1の固体と前記第2の固体は互いによりあうように配置され、

前記領域内における、前記第2の固体の頂部の表面の面積は前記第1の固体の表面の面積より小さい、請求項16に記載の装置。

18. 前記第2の固体は、頂部の幅の異なる複数のアイランドである、請求項12～17いずれかに記載の装置。

19. 前記第1の固体の表面部分の材料と前記第2の固体の表面部分の材料との組合せは、シリコンーシリコン酸化物、シリコンーシリコン窒化物またはシリコンーアルミナのいずれかの組合せである、請求項12～18いずれか1項に記載の装置。

20. 溶液中に含まれる帯電した物質を前記溶液から分離するための装置であって、

半導体基板と、

第1の固体と、

第2の固体とを

備え、

前記第1の固体は、前記半導体基板上に形成された半導体化合物膜または金属化合物膜であり、

前記第2の固体は、前記第1の固体上に形成される半導体化合物製のアイランドまたは金属化合物製のアイランドであり、

前記第1の固体の表面および前記第2の固体の表面は、前記溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位に帯電するものであり、それにより、前記第2の固体の表面に前記帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている、分離装置。

21. 前記半導体基板がシリコン基板である、請求項20に記載の装置。
22. 前記アイランドの少なくとも頂部の材料は、シリコン酸化物、シリコン窒化物、金属酸化物または金属窒化物のいずれかである、請求項20または21に記載の装置。
- 5 23. 前記アイランドの頂部の幅は $10\mu\text{m}$ ～ $200\mu\text{m}$ である、請求項20～22いずれか1項に記載の装置。
24. 前記アイランドを囲むように前記第1の固体表面上に設けられた、前記溶液を保持するための囲い壁を有する、請求項20～23のいずれか1項に記載の装置。
- 10 25. 前記囲い壁で取り囲まれた領域において、前記第1の固体と前記第2の固体は互いによりあうように配置され、
前記領域内における、前記第2の固体の頂部の表面の面積は前記第1の固体の表面の面積より小さい、請求項24に記載の装置。
26. 前記第2の固体は、頂部の幅の異なる複数のアイランドである、請求項20～25いずれか1項に記載の装置。
- 15 27. 前記第1の固体の表面部分の材料と前記第2の固体の表面部分の材料との組合せは、シリコン酸化物－シリコン窒化物、シリコン酸化物－アルミナまたはシリコン窒化物－アルミナのいずれかの組合せである、請求項20～26のいずれか1項に記載の装置。
- 20 28. 溶液中に含まれる帯電した物質を前記溶液から分離するための装置であって、
複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第1の部材と、
前記複数の貫通孔をふさぐように、前記第1の部材と組み合わせられる第2の部材とを備え、
- 25 前記第2の部材の前記貫通孔に露出した表面には、第1領域と第2領域があり、
前記表面が前記溶液と接触するとき、前記第1領域と前記第2領域は互いに異なる表面電位またはゼータ電位に帯電し、それにより前記第2領域に前記帯電した物質をより強く静電的に吸着させるようになっている、分離装置。
29. 前記第1の領域は、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選

ばれた第 1 の材料の露出した表面であり、前記第 2 の領域は、前記第 1 の材料とは実質的に異なる金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた材料が露出した表面である、請求項 28 に記載の装置。

- 5 30. 前記第 1 の材料は、シリコン、シリコン酸化膜およびシリコン窒化膜よりなる群から選ばれた材料であり、

前記第 2 の材料は、シリコン、シリコン窒化物および金属酸化膜よりなる群から選ばれた材料である、請求項 29 に記載の装置。

31. 前記第 2 の部材は複数有り、1 つの前記第 1 の部材と、複数の前記第 2 の部材とが組み合わされている、請求項 28 に記載の装置。

- 10 32. 前記第 1 の領域は、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた第 1 の材料の露出した表面であり、前記第 2 の領域は、前記第 1 の材料とは実質的に異なる材料が露出した表面である、請求項 31 に記載の装置。

33. 前記複数の第 2 の部材間で、前記第 1 の材料と前記第 2 の材料との組合せが異なっている、請求項 32 に記載の装置。

- 15 34. 前記第 2 の領域は前記第 1 の領域よりも小さい、請求項 28 ～ 33 いずれかに記載の装置。

35. 前記物質を含む溶液の pH を測定するための手段をさらに備える、請求項 1 ～ 34 のいずれか 1 項に記載の装置。

- 20 36. 前記 pH 測定手段は、
半導体層と、
前記半導体層上に形成される絶縁層と、
前記溶液を前記絶縁層上で保持するための囲い壁と、
前記溶液に接触するように前記囲い壁に設けられる金属電極とを備える、請求項 35 に記載の装置。

- 25 37. 前記帯電した物質が有機分子である、請求項 1 ～ 36 のいずれかに記載の装置。

38. 前記有機分子が生体高分子である、請求項 37 に記載の装置。

39. 前記生体高分子がタンパク質である、請求項 38 に記載の装置。

40. 前記有機分子の結晶を調製するためのものである、請求項 37 に記載の装

置。

4 1. 溶液中に含まれる帯電した有機分子を前記溶液から分離するための方法であって、

5 前記有機分子を含み、かつ前記有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載される装置の前記複数種の固体の表面に接触させる工程を備える、有機分子の分離方法。

4 2. 溶液中に含まれる帯電した有機分子の結晶を前記溶液から調製する方法であって、

10 前記有機分子を含み、かつ前記有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載される装置の前記複数種の固体の表面に接触させる工程、および

前記複数種の固体の表面のいずれかの上で前記有機分子の結晶が成長するよう、前記接触を維持する工程を備える、有機分子の結晶調製方法。

15 4 3. 溶液中に含まれる帯電した有機分子の結晶を作製する方法であって、

前記有機分子を含み、かつ前記有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載される装置の前記複数種の固体の表面に接触させる工程、および

20 前記複数種の固体の表面のいずれかの上で前記有機分子の結晶が成長するよう、前記装置を沈殿剤と共に密封して、前記接触を維持する工程を備える、有機分子の結晶作製方法。

4 4. 前記有機分子を含む溶液の pH は、前記複数種の固体の表面のうち少なくとも 1 つに前記有機分子と逆の極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであり、かつ残りの固体の表面に前記有機分子と同じ極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものである、請求項 4 1 ～ 4 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

25 4 5. 請求項 2 8 ～ 3 4 のいずれか 1 項に記載の装置のためのキットであって、複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第 1 の部材、および

前記溶液中で互いに異なる表面電位またはゼータ電位を示す複数種の表面をそれぞれ有する複数の第 2 の部材を備える、キット。

46. 溶液中に含まれるタンパク質の結晶を調製するための装置であって、
基板と、

前記基板上の所定の領域に形成された、少なくとも頂上部が前記基板とは実質的に異なる材料からなる、アイランドとを備え、

5 前記アイランドとその周囲に存在する前記基板の表面を同時に前記溶液に接触させたとき、前記基板の表面と前記アイランドの表面は互いに異なる表面電位に帯電するものであり、それにより、前記溶液中のタンパク質分子を前記アイランド上に吸着させて前記アイランド上に蛋白質の結晶を成長させるようになっている、タンパク質の結晶調製装置。

10 47. さらに、前記アイランドとその周囲に存在する前記基板の表面を取り囲むように前記基板上に設けられた囲い壁を有する、請求項46に記載の装置。

48. 前記囲い壁で取り囲まれた部分に存在するアイランドの頂部の表面の占める面積は、前記部分に存在する前記アイランド以外の前記基板表面の占める面積より小さい、請求項47に記載の装置。

15 49. 前記アイランドの頂部は、タンパク質の結晶がそのアイランド頂部からはみ出して成長できるような幅を有する、請求項46～48のいずれか1項に記載の装置。

50. 前記アイランドの頂部の幅は $10\mu\text{m}$ ～ $200\mu\text{m}$ である、請求項46～49のいずれか1項に記載の装置。

20 51. 溶液中に含まれる蛋白質の結晶を調製するための装置であって、
基板と、

前記基板上に形成された膜と、

前記膜上に形成された、少なくとも頂上部は前記膜とは実質的に異なる材料からなる、アイランドとを備え、

25 前記アイランドとその周囲に存在する前記膜の表面を同時に前記溶液に接触させたとき、前記膜の表面と前記アイランドの表面は互いに異なる表面電位に帯電するものであり、それにより、前記溶液中のタンパク質分子を前記アイランド上に吸着させて前記アイランド上に蛋白質の結晶を成長させるようになっている、タンパク質の結晶調製装置。

- 5 2. さらに、前記アイランドとその周囲に存在する前記膜の表面を取り囲むように前記基板上に設けられた囲い壁を備えた、請求項 5 1 に記載の装置。
- 5 3. 前記囲い壁で取り囲まれた部分に存在するアイランドの頂部の表面の占める面積は、前記部分に存在する前記アイランド以外の前記基板表面の占める面積より小さい、請求項 5 2 に記載の装置。
- 5 4. 前記アイランドの頂部は、タンパク質の結晶がそのアイランド頂部からはみ出して成長できるような幅を有する、請求項 5 1 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載の装置。
- 10 5 5. 前記アイランドの頂部の幅は $10\ \mu\text{m}$ ～ $200\ \mu\text{m}$ である、請求項 5 1 ～ 5 4 に記載の装置。
- 5 6. 溶液中に含まれる有機分子の結晶を調製するための装置であって、
- (1) 複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第 1 の部材と、
- (2) 前記第 1 の部材に接合された複数の第 2 の部材とを備え、
- 前記第 2 の部材は、
- 15 (a) 基板と、
- (b) 前記基板の表面に形成された、少なくとも頂部は前記第 1 の基板とは異なる材料からなるアイランドとを備えており、
- 前記アイランドは、前記貫通孔の内側に存在するように形成されている、結晶調製用装置。
- 20 5 7. 前記基板がシリコンからなり、前記アイランドの少なくとも頂部の材料が金属酸化物またはシリコン窒化物からなる、請求項 5 6 に記載の結晶調製用装置。
- 5 8. 溶液中に含まれる有機分子の結晶を調製するための装置であって、
- (1) 複数の貫通孔が互いに離れて設けられている第 1 の部材と、
- (2) 前記第 1 の部材に接合された複数の第 2 の部材とを備え、
- 25 前記第 2 の部材は、
- (a) 基板と、
- (b) 前記基板の表面に形成された前記基板とは異なる材料からなる膜と、
- (c) 前記膜上に形成された、少なくとも頂上部は前記膜とは異なる材料からなるアイランドとを備えており、

前記アイランドは、前記貫通孔の内側に存在するように形成されている、結晶調製用装置。

59. 前記基板がシリコンからなり、前記アイランドの少なくとも頂部の材料が金属酸化物またはシリコン窒化物からなる、請求項58に記載の結晶調製用装置。



FIG. 1 A

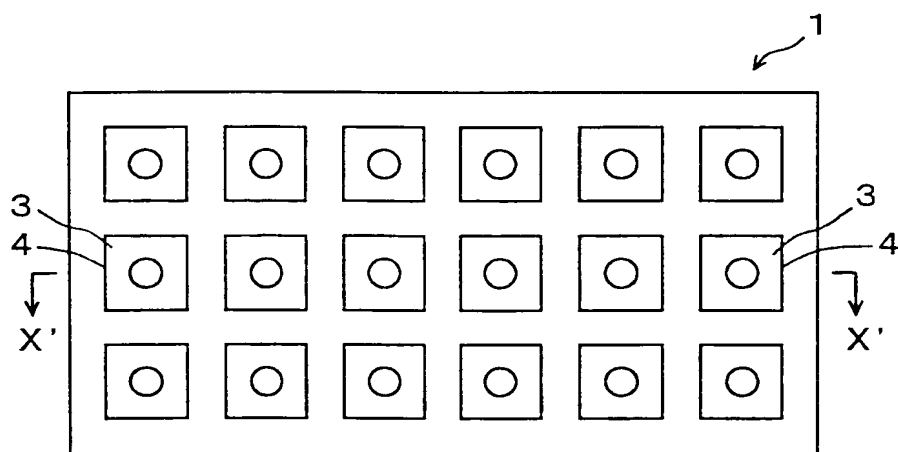


FIG. 1 B

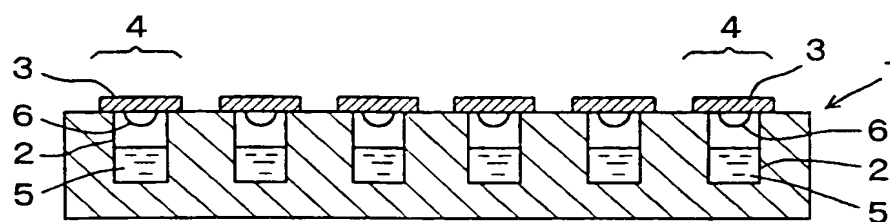




FIG.2A

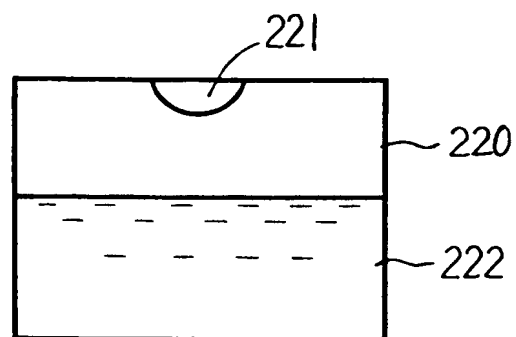


FIG.2B

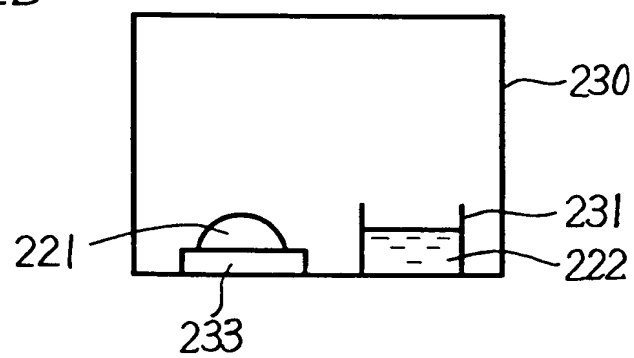




FIG.3

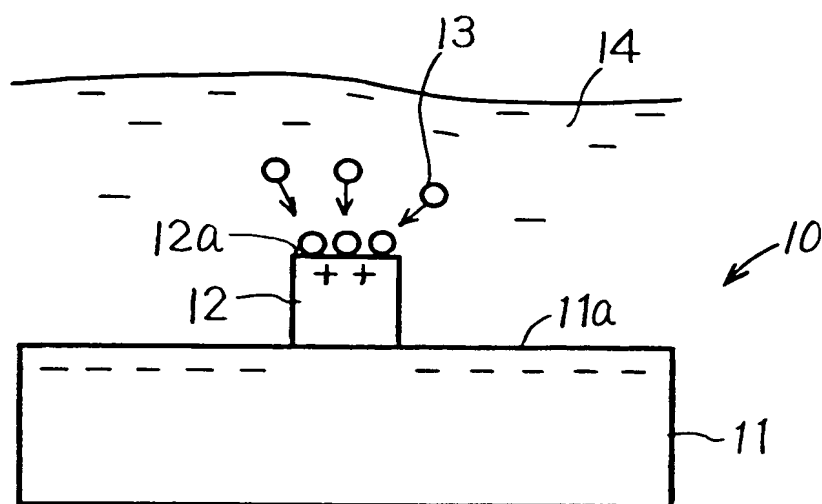




FIG.4

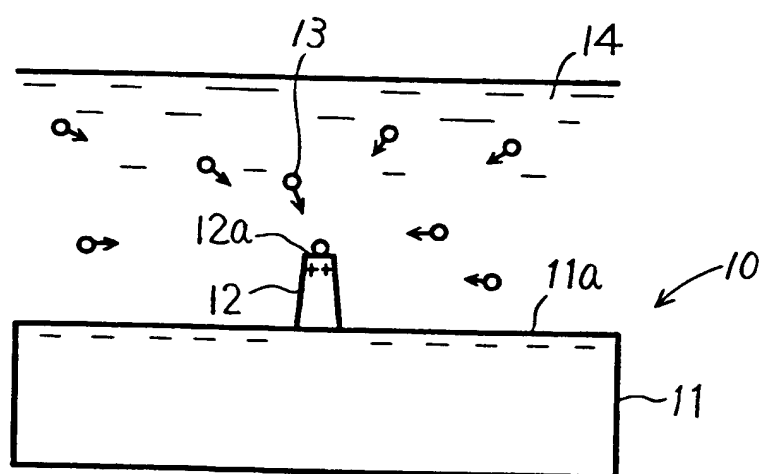




FIG.5A

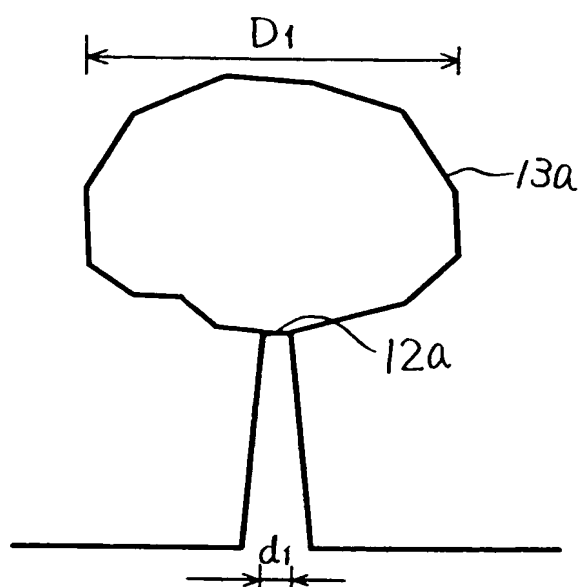


FIG.5B

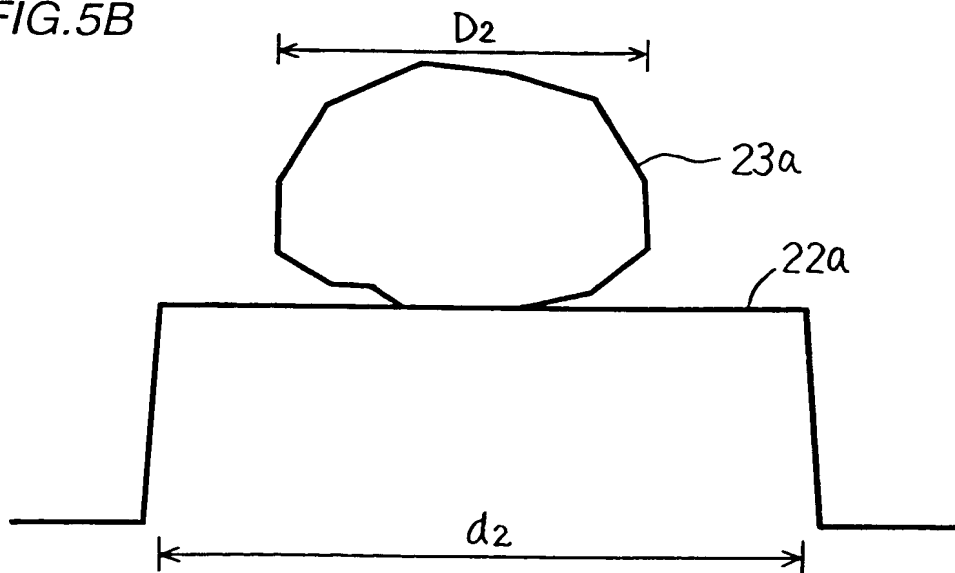




FIG. 6A

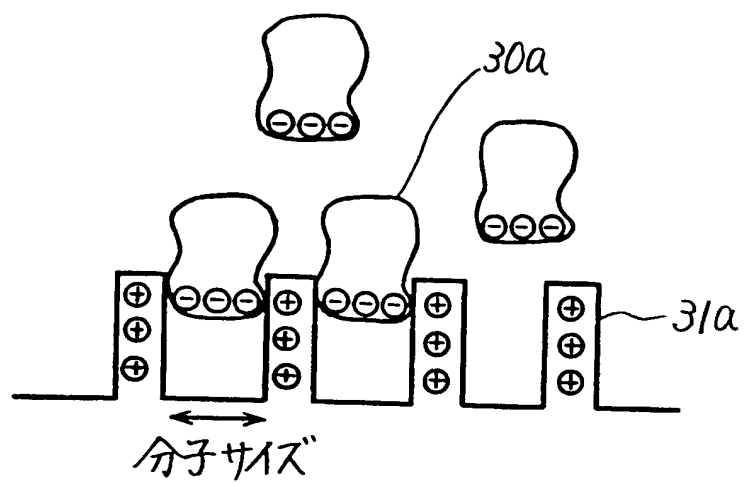


FIG. 6B

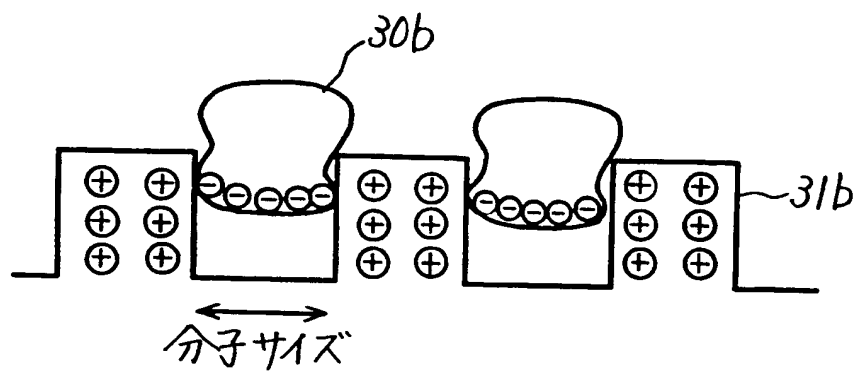




FIG. 7

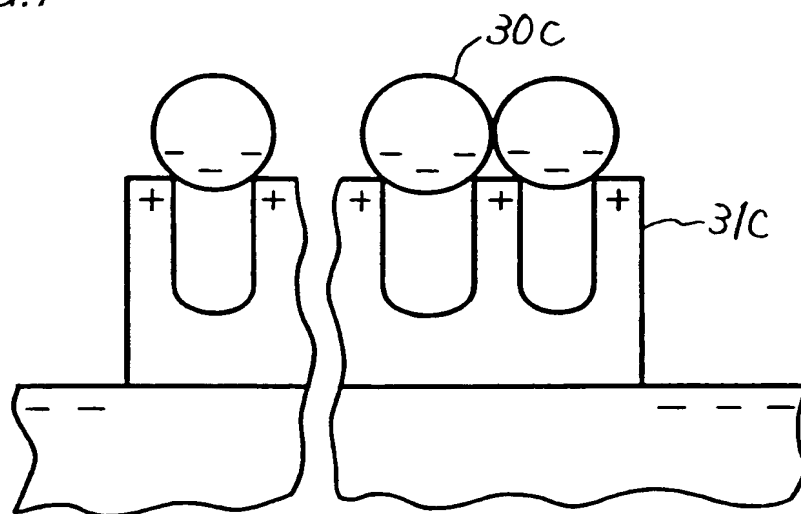


FIG. 8

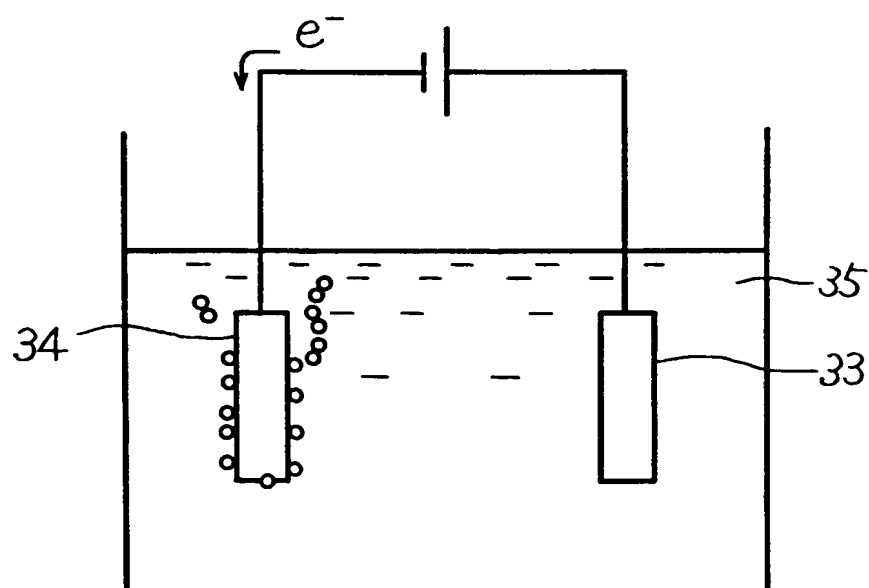




FIG.9

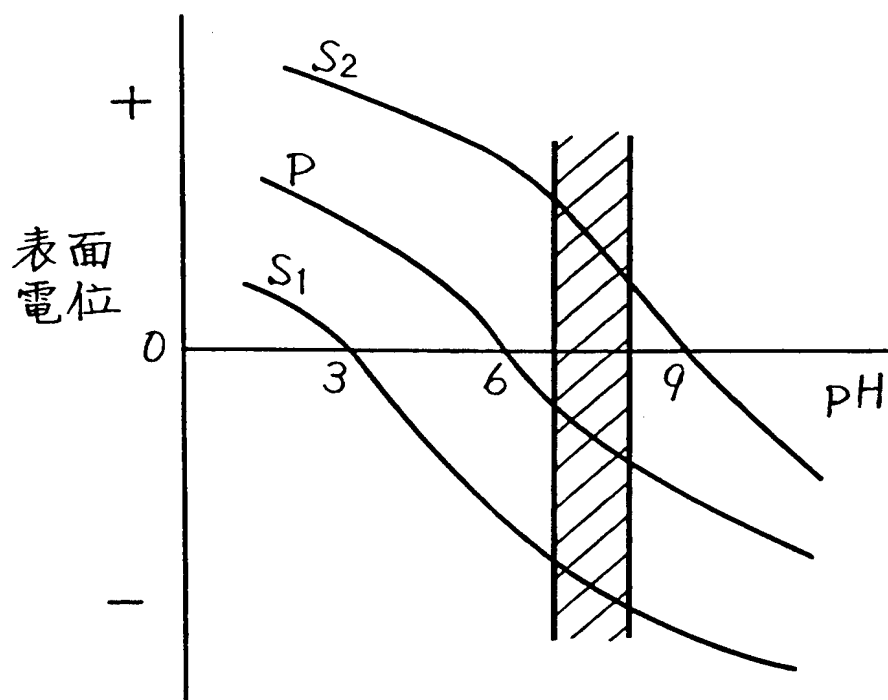
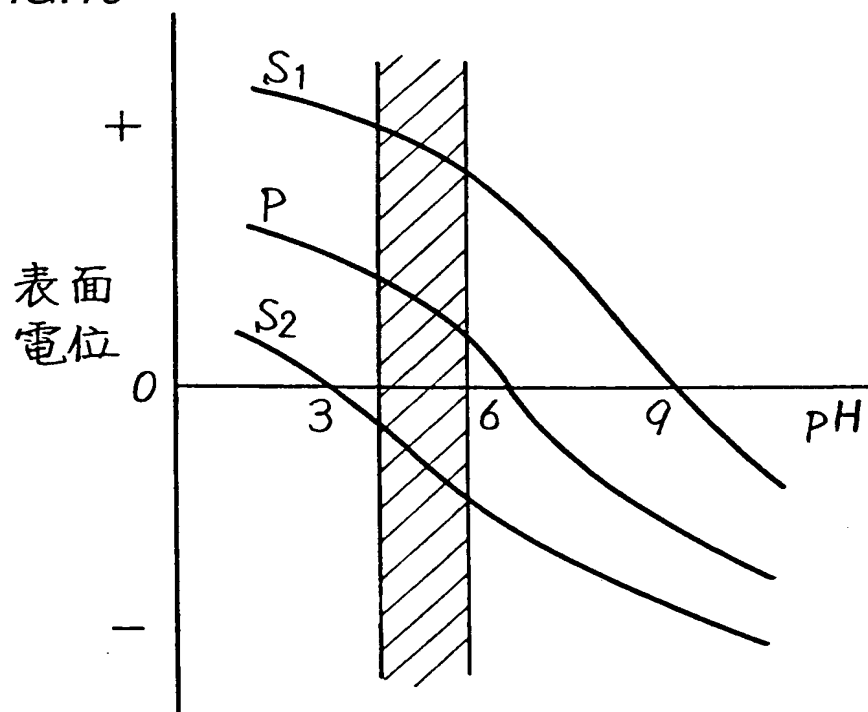


FIG.10





.

.

.

.

FIG. 11

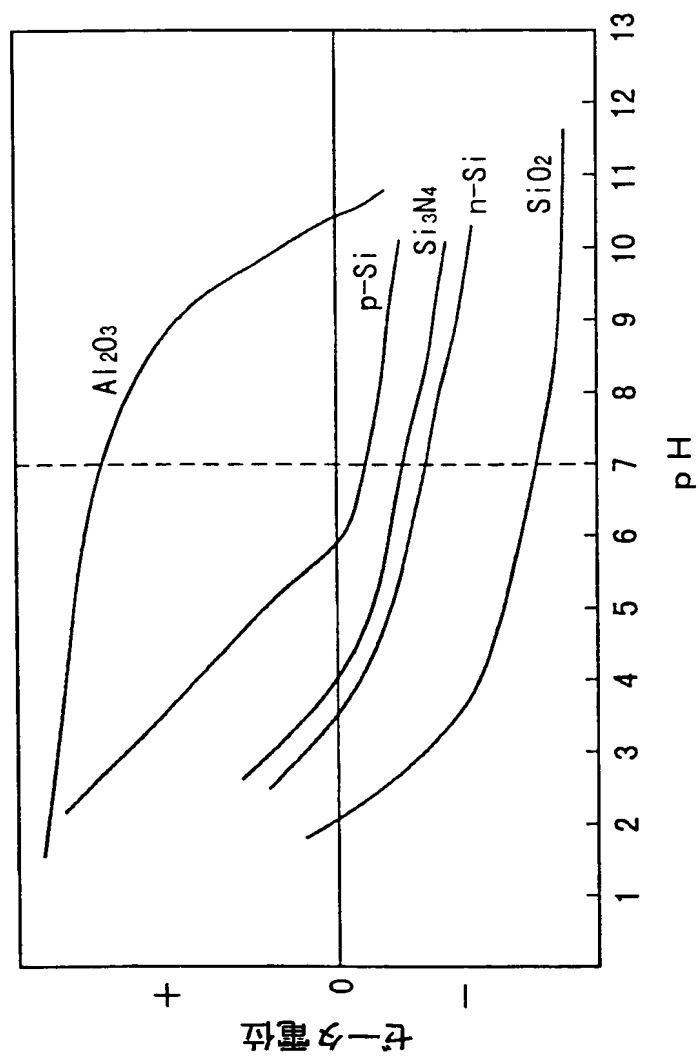




FIG. 12A

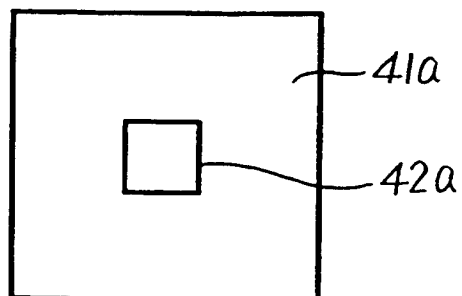


FIG. 12B

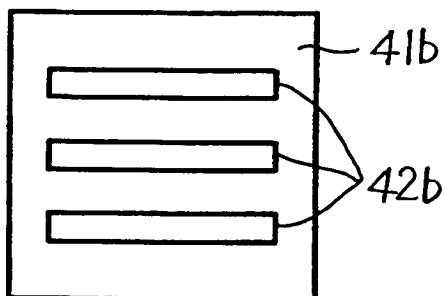


FIG. 12C

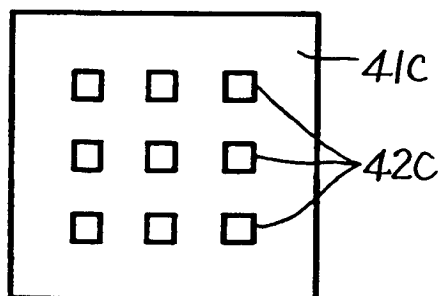




FIG. 13A

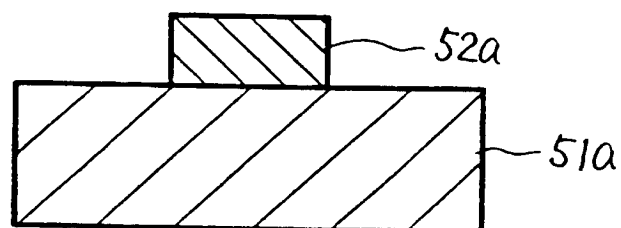


FIG. 13B

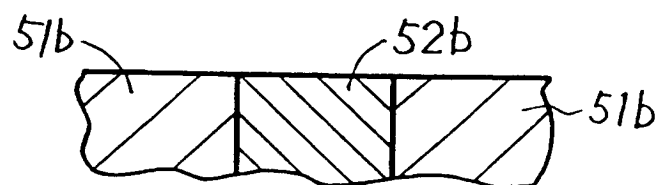


FIG. 14

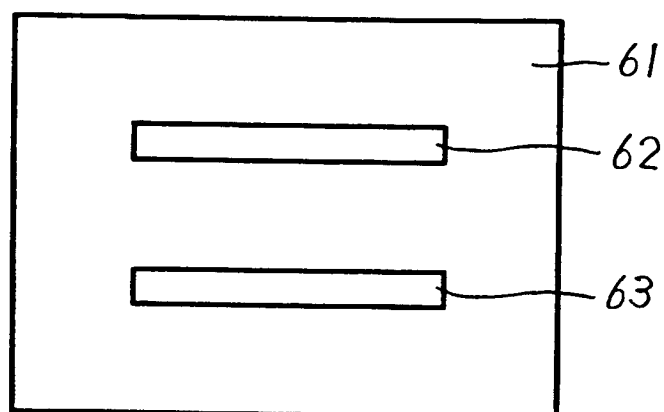


FIG. 15

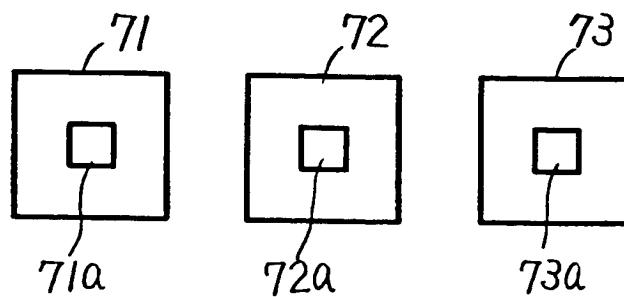




FIG. 16A

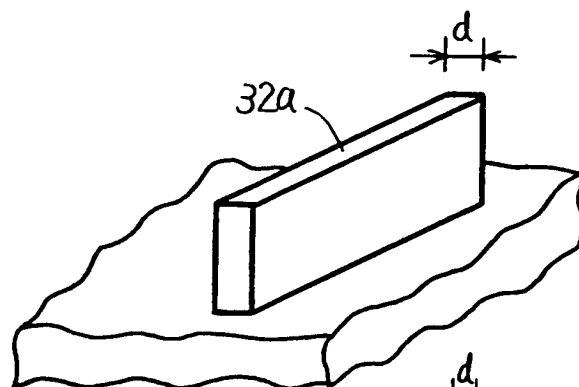


FIG. 16B

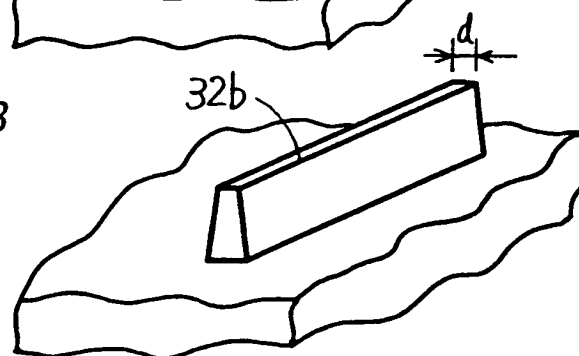


FIG. 16C

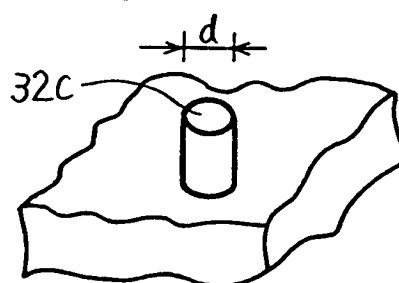


FIG. 16D

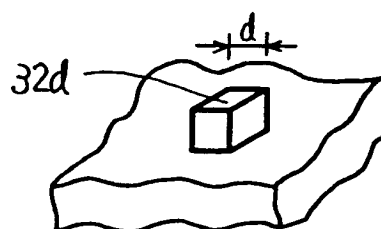




FIG.17A

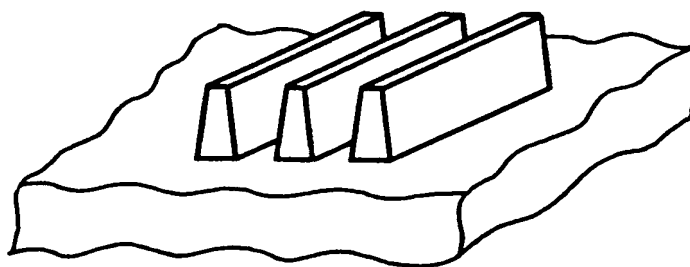


FIG.17B

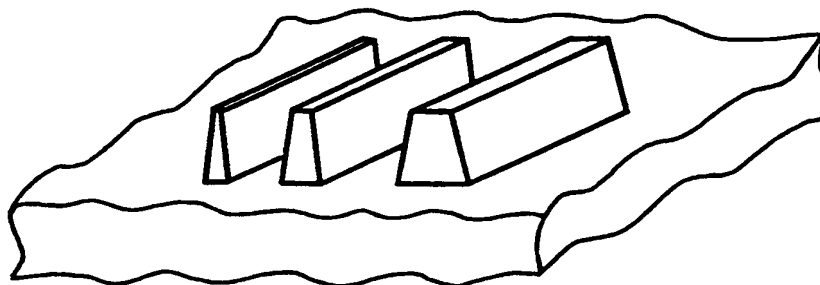




FIG. 18A

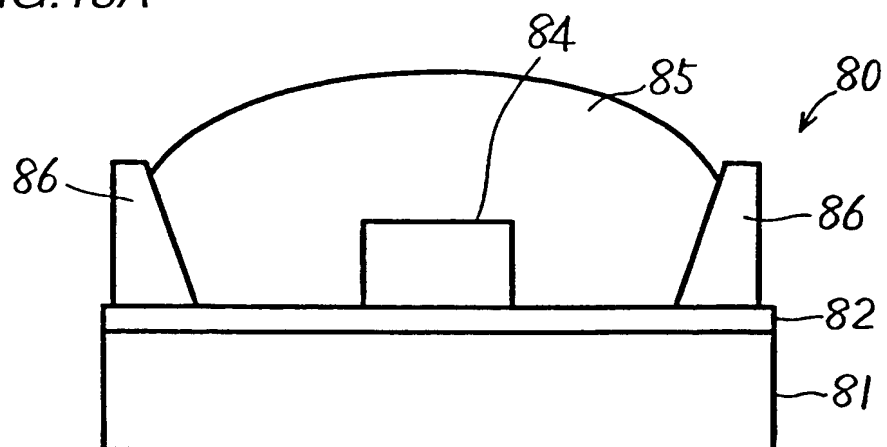


FIG. 18B

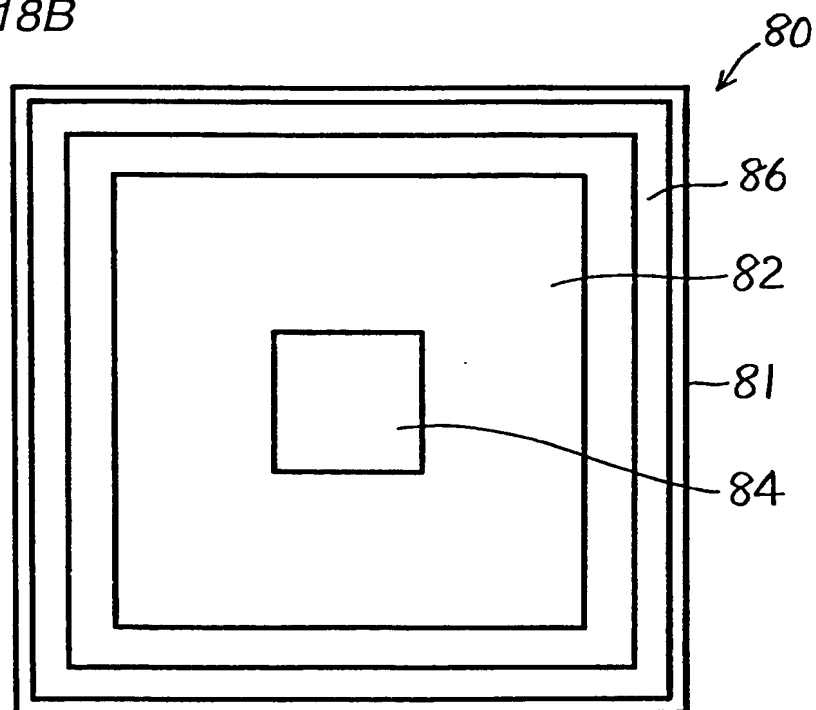




FIG. 19A

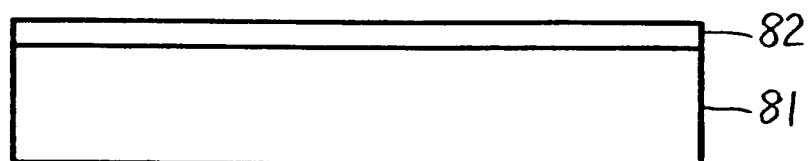


FIG. 19B

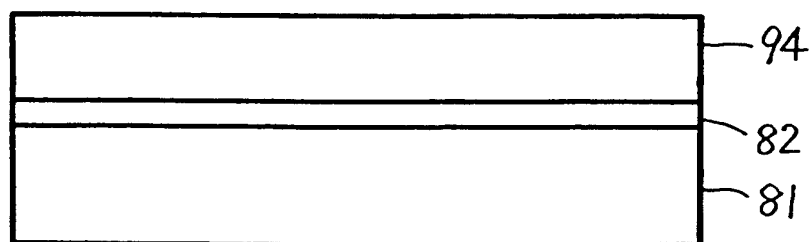


FIG. 19C

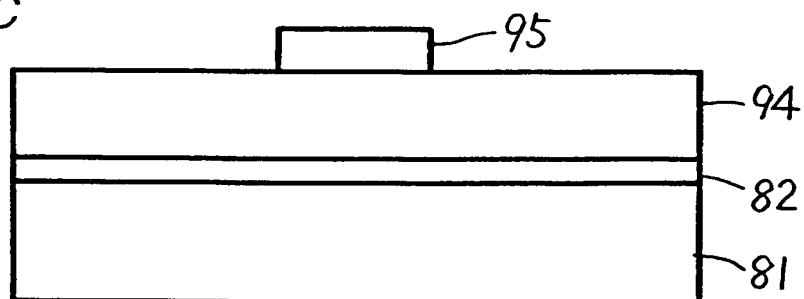


FIG. 19D

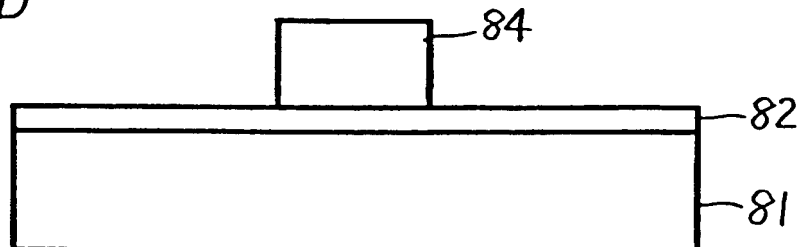




FIG.20A

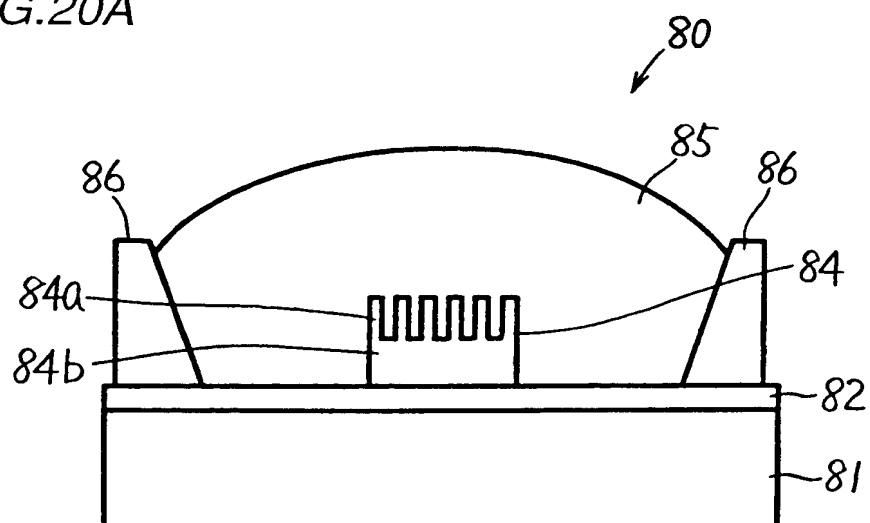


FIG.20B

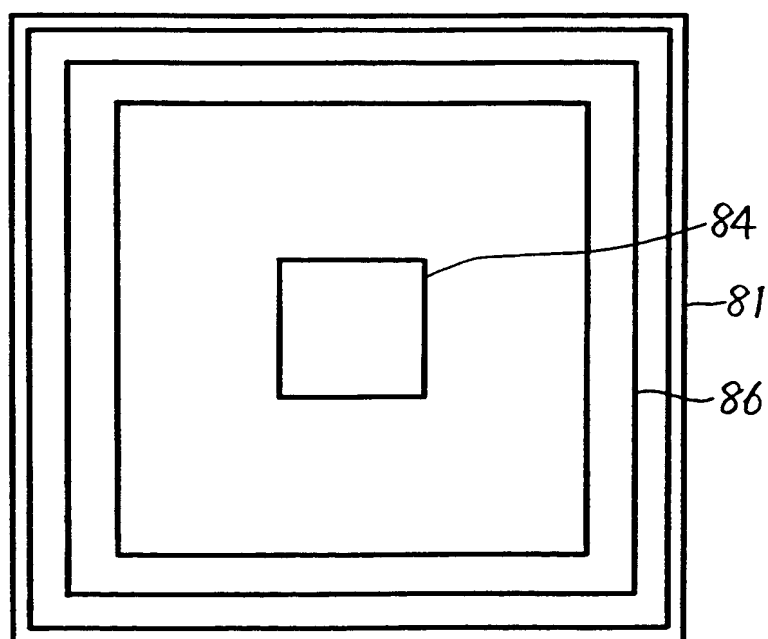




FIG.21A

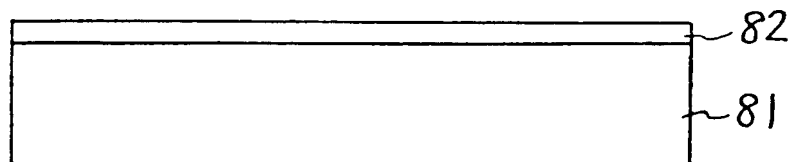


FIG.21B

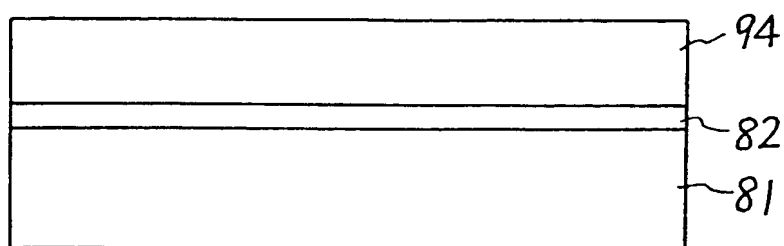


FIG.21C

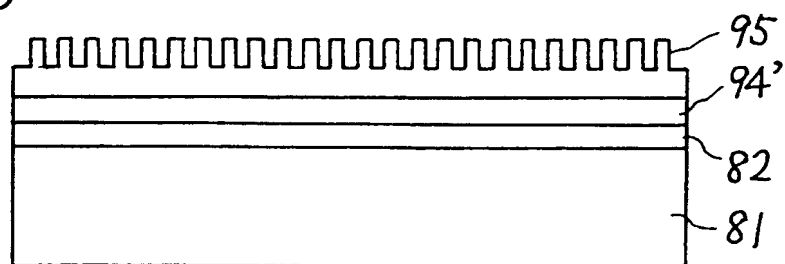


FIG.21D

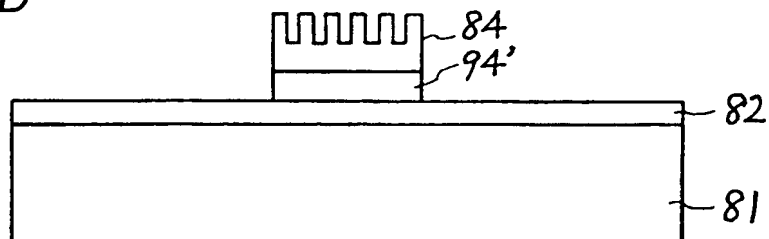




FIG.22A

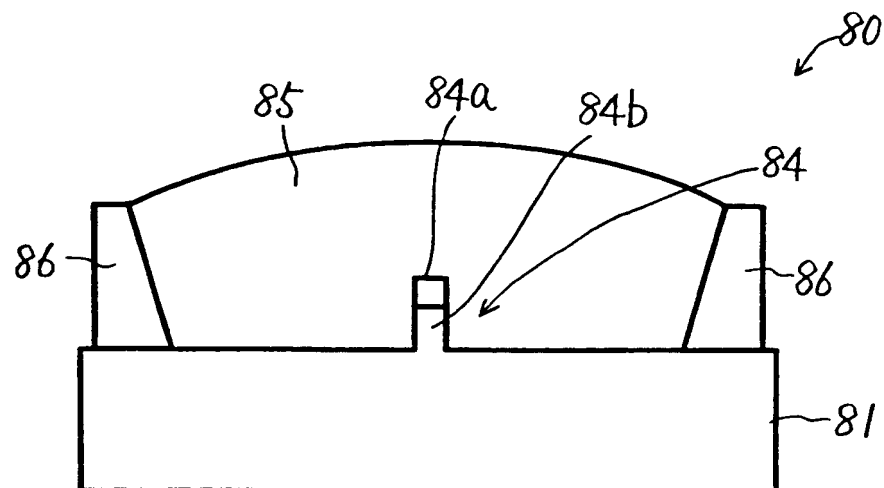


FIG.22B

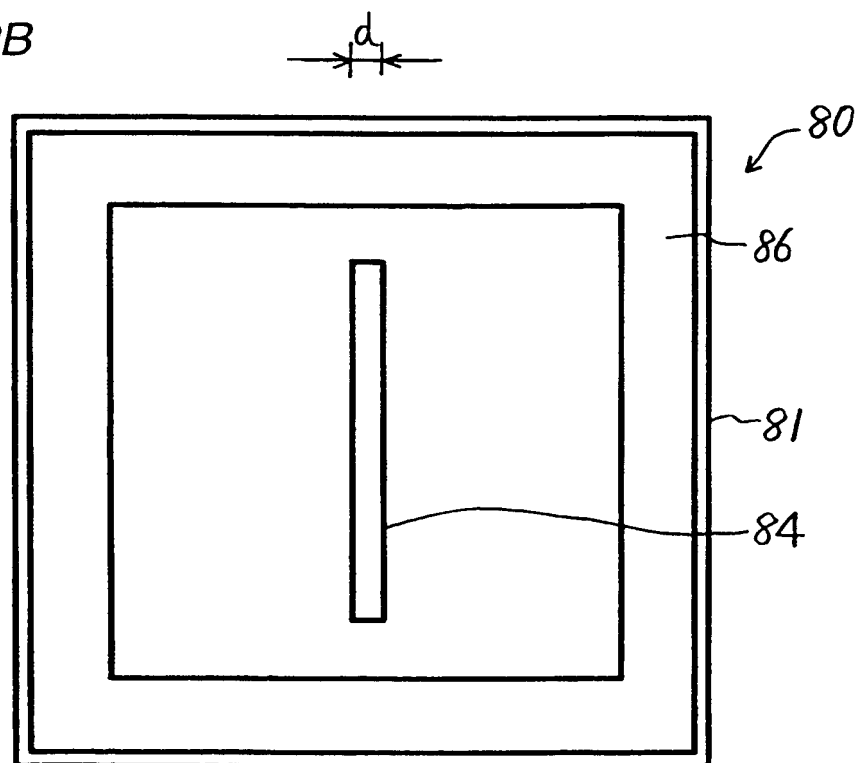




FIG.23A

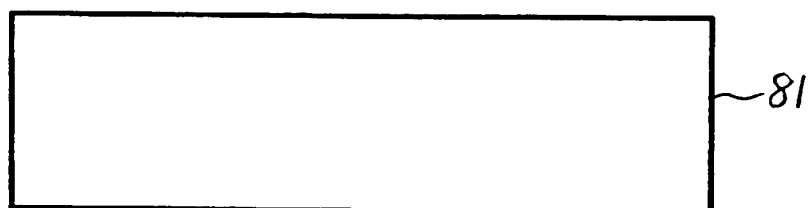


FIG.23B

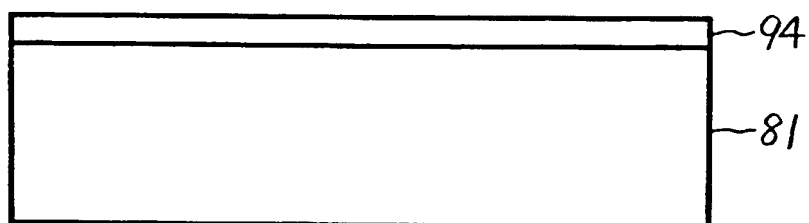


FIG.23C

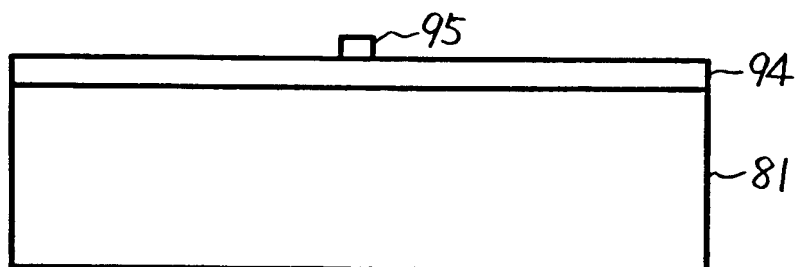


FIG.23D

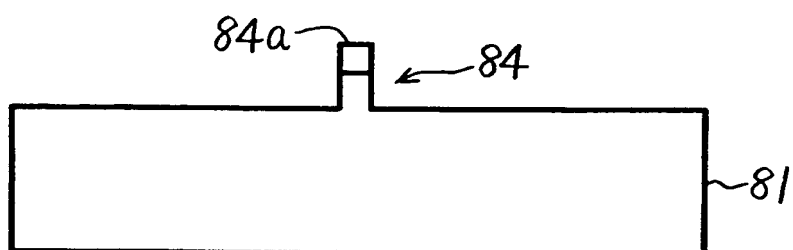




FIG.24A

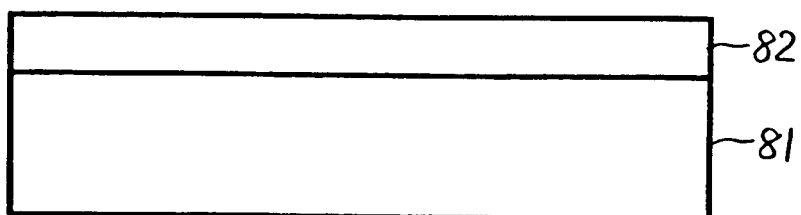


FIG.24B

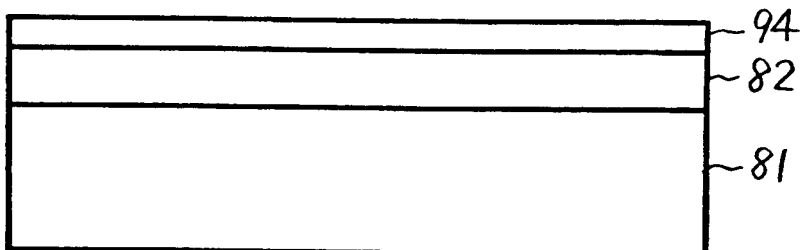


FIG.24C

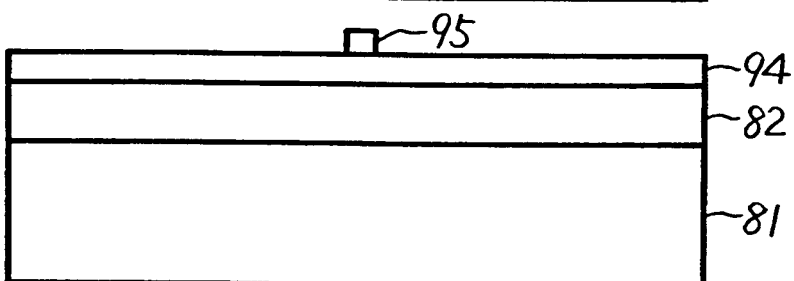


FIG.24D

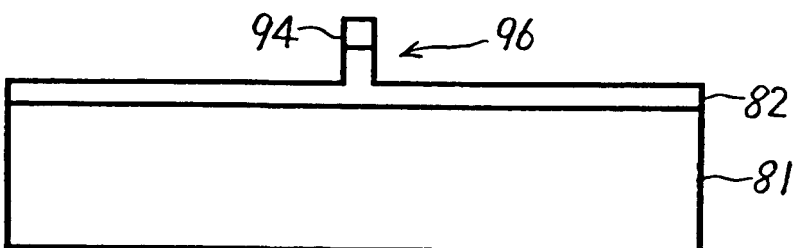




FIG. 25 A

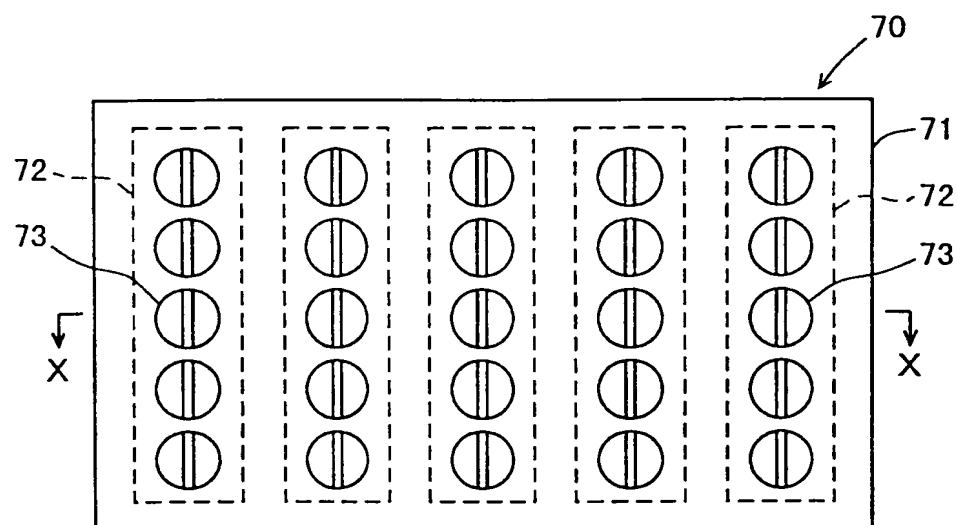


FIG. 25 B

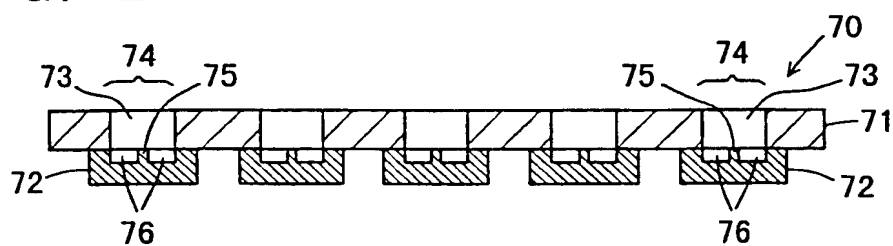




FIG. 26A

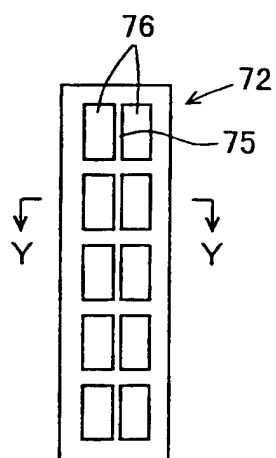


FIG. 26B

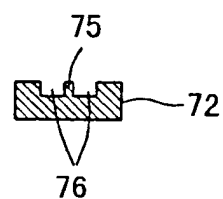


FIG. 27

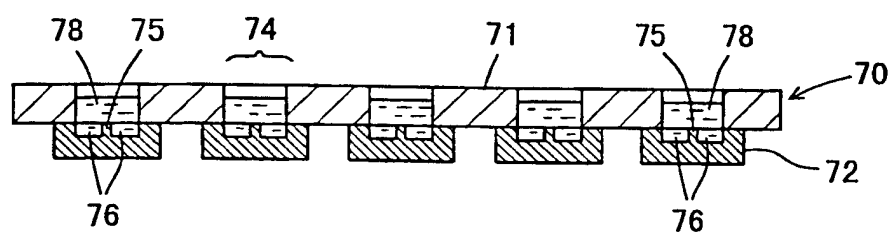




FIG. 28A

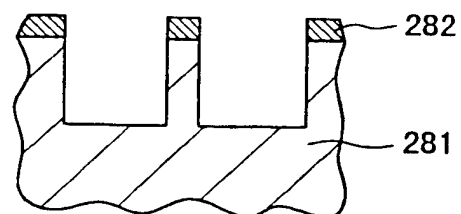


FIG. 28B

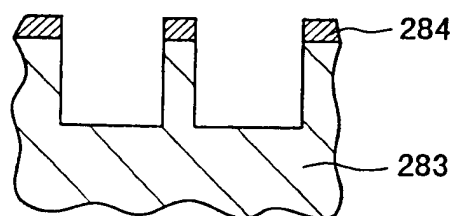


FIG. 28C

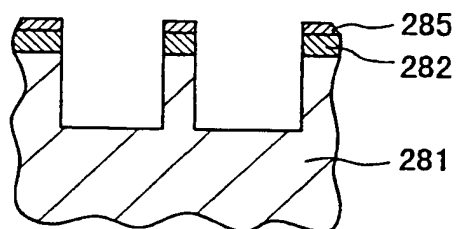


FIG. 28D

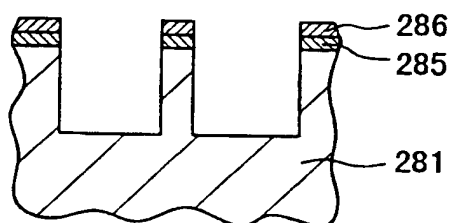


FIG. 28E

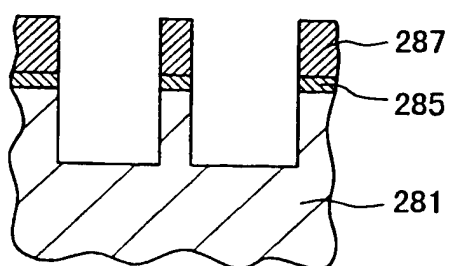




FIG. 29A

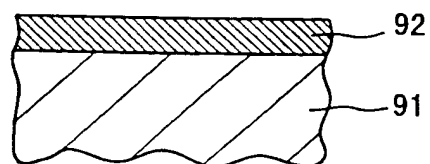


FIG. 29B

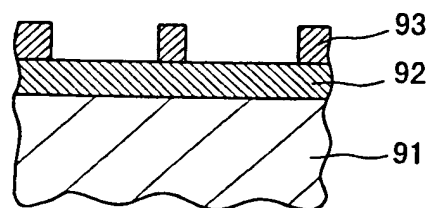


FIG. 29C

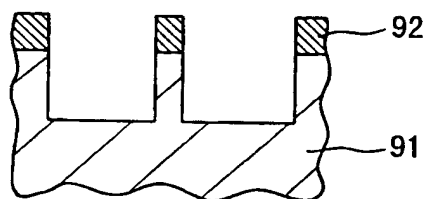




FIG. 30A

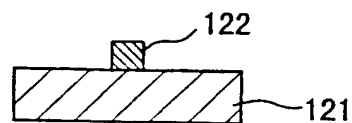


FIG. 30B

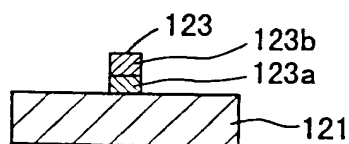


FIG. 30C

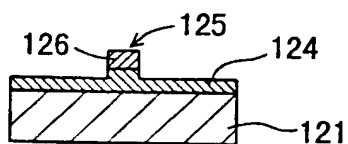


FIG. 30D

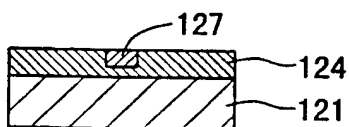


FIG. 30E

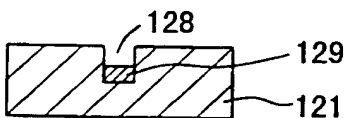




FIG.31A

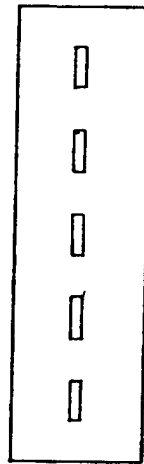


FIG.31B

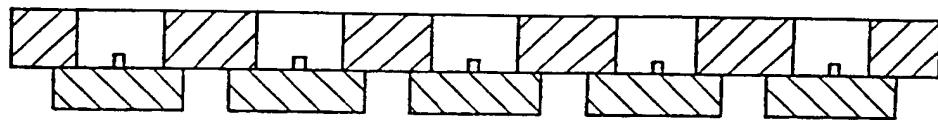




FIG. 32A

FIG. 32B

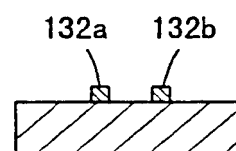
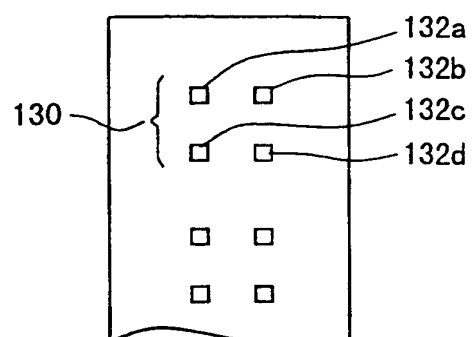


FIG. 33A

FIG. 33B

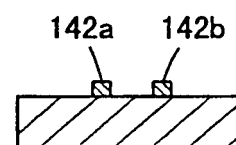
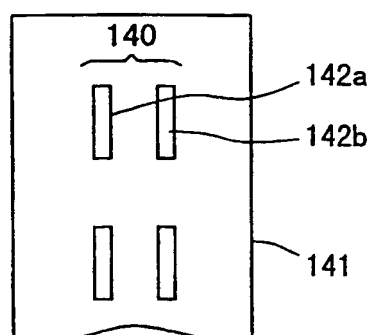




FIG. 34A

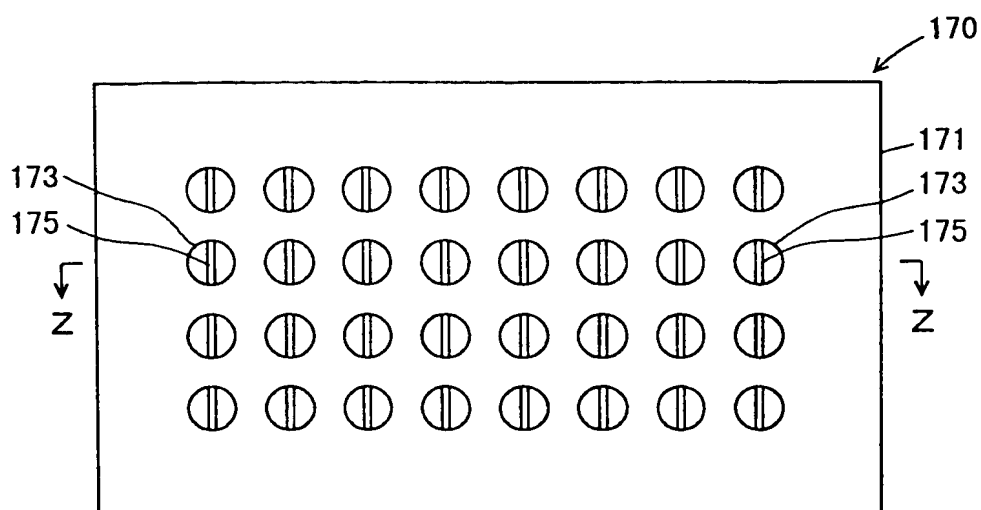


FIG. 34B

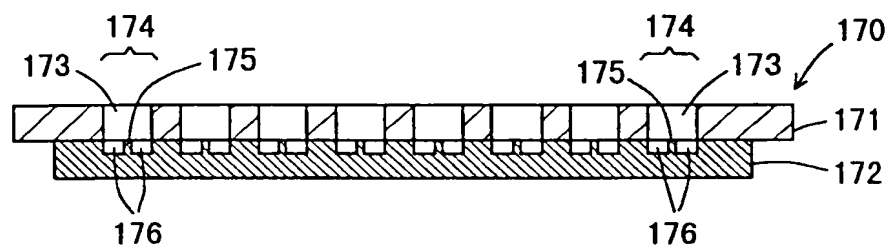




FIG. 35

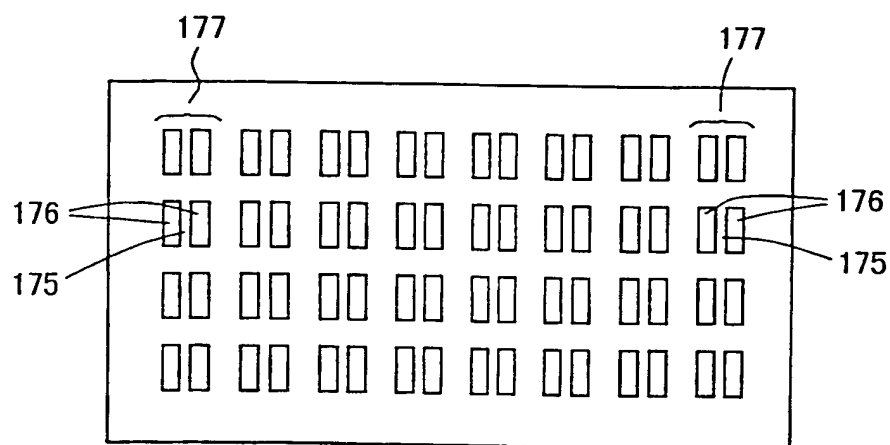


FIG. 36

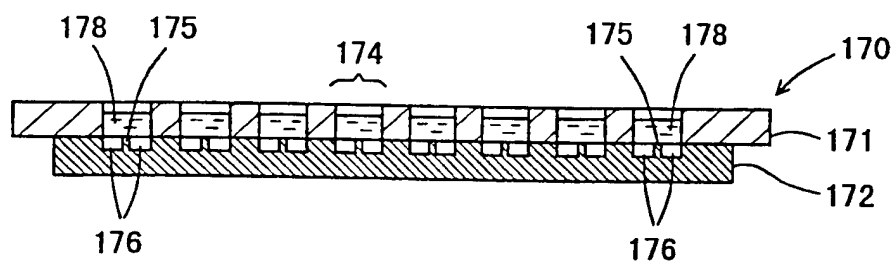




FIG. 37A

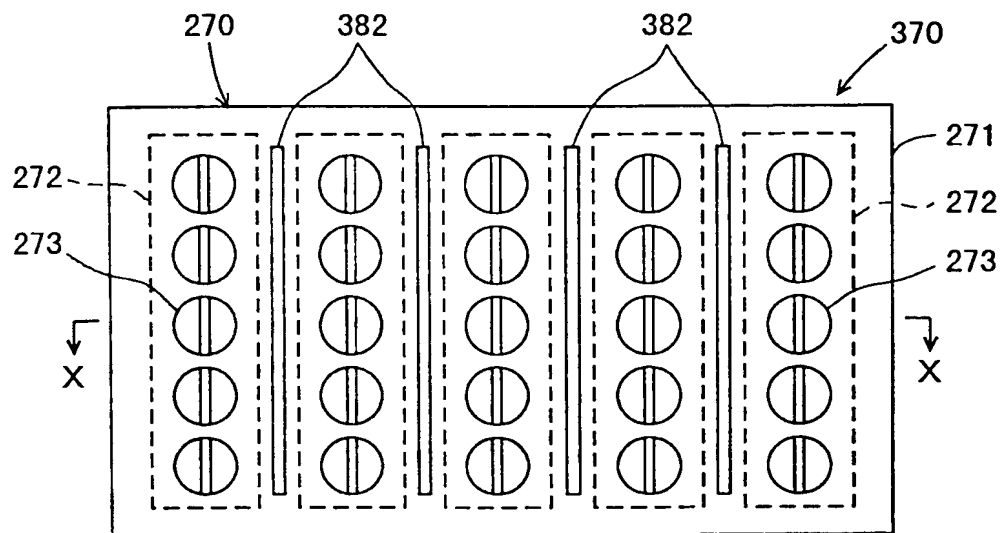


FIG. 37B

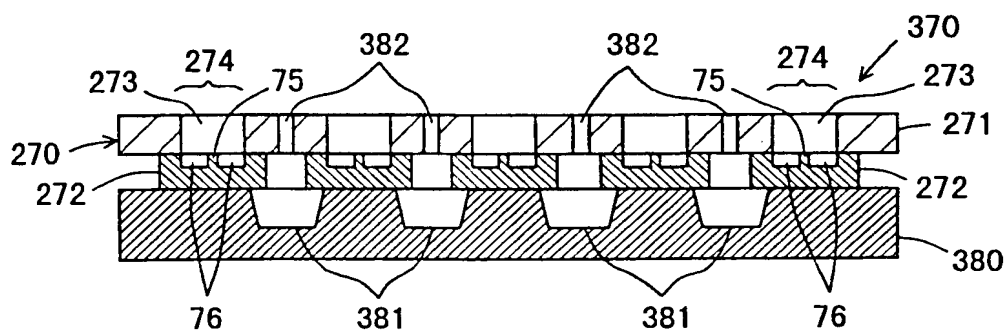




FIG. 38

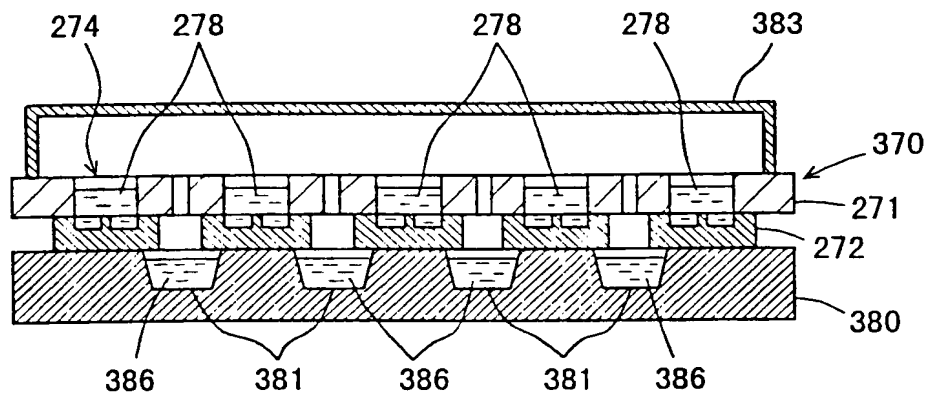


FIG. 39

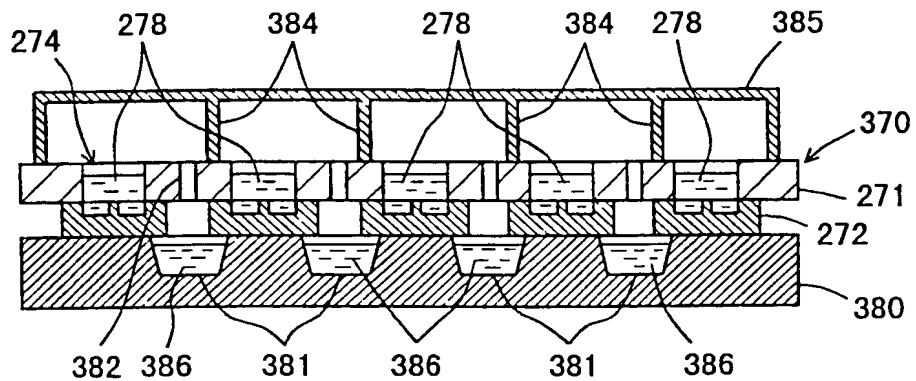




FIG. 40

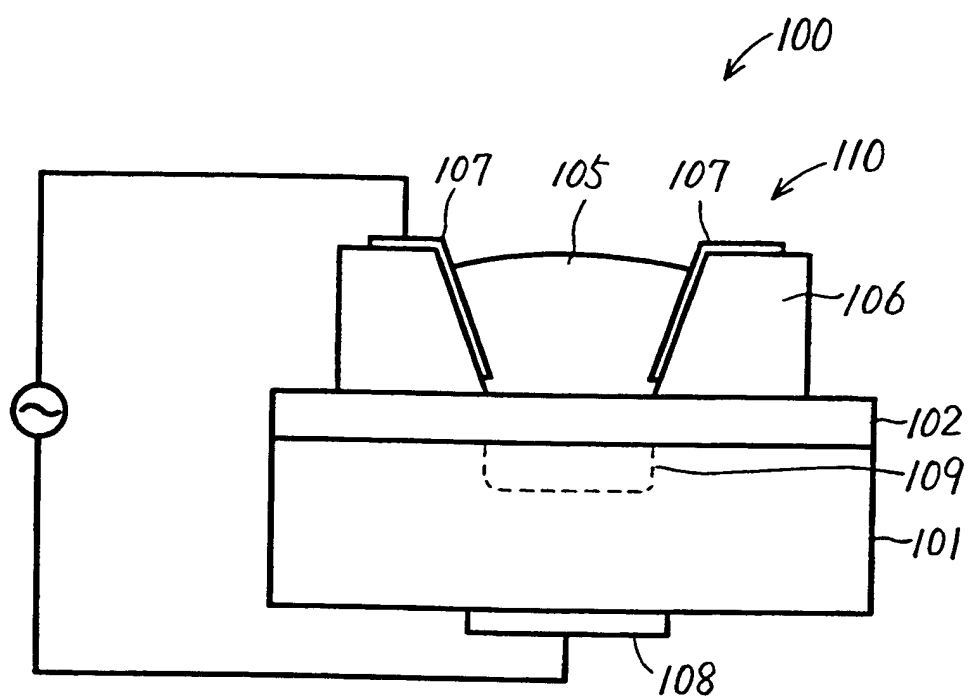




FIG.41

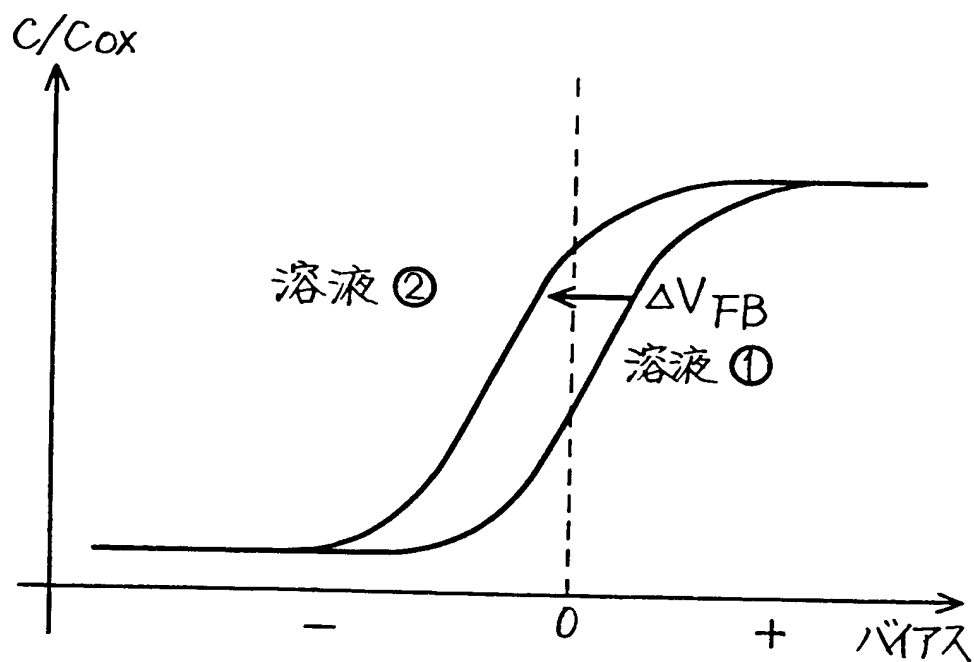


FIG.42

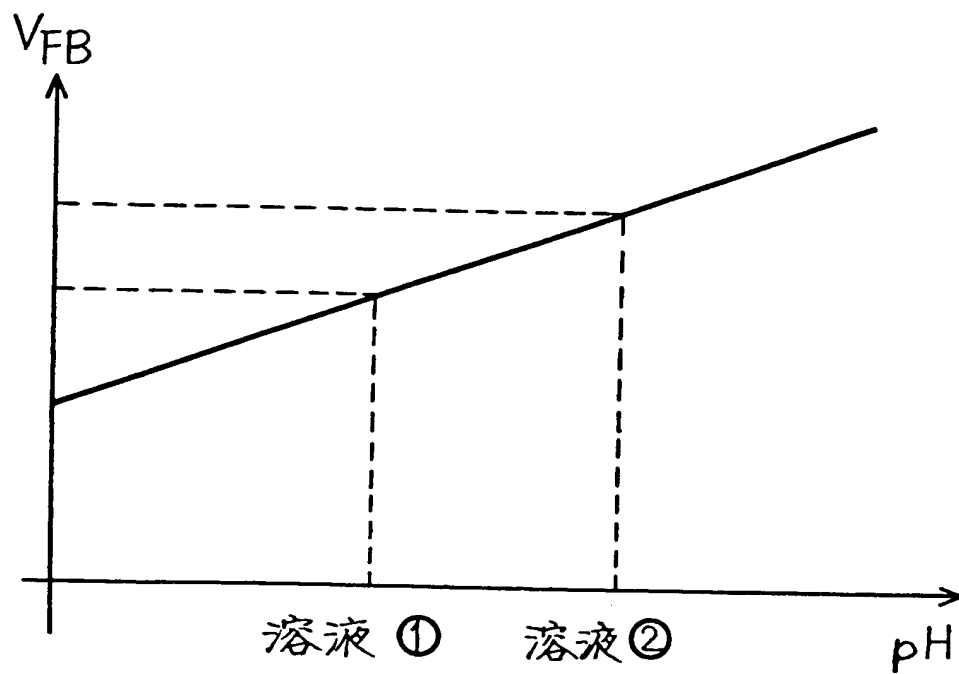
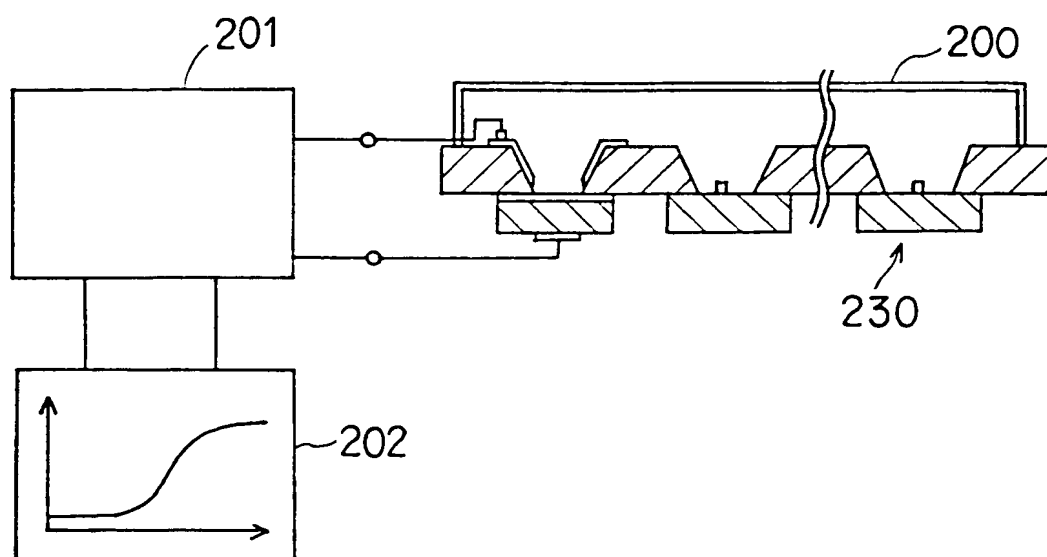




FIG. 43





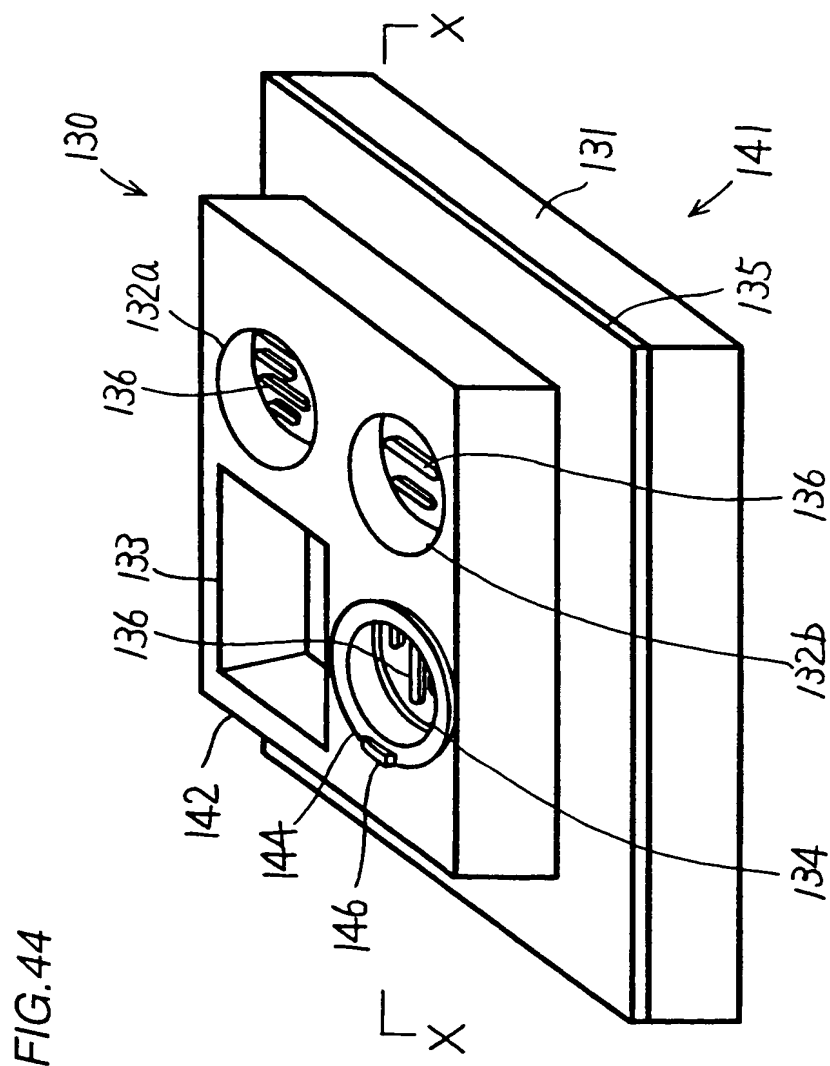




FIG.45

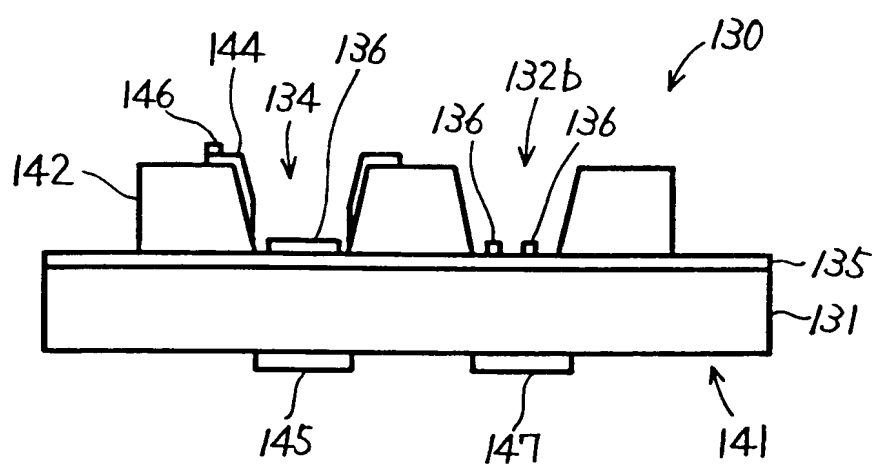




FIG.46

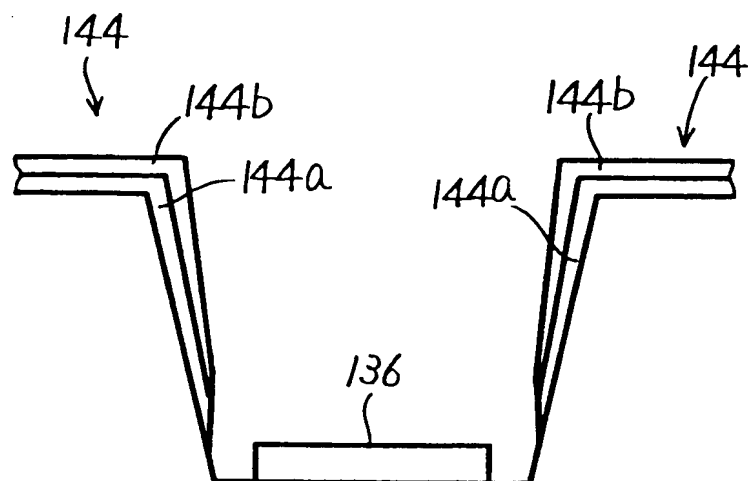


FIG.47A

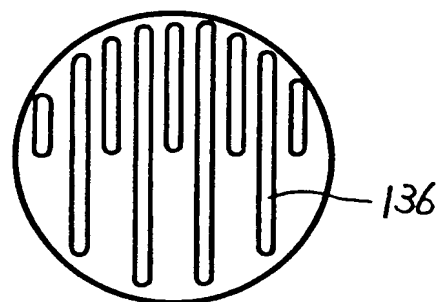


FIG.47B

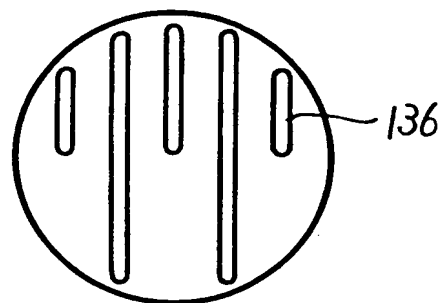




FIG. 48

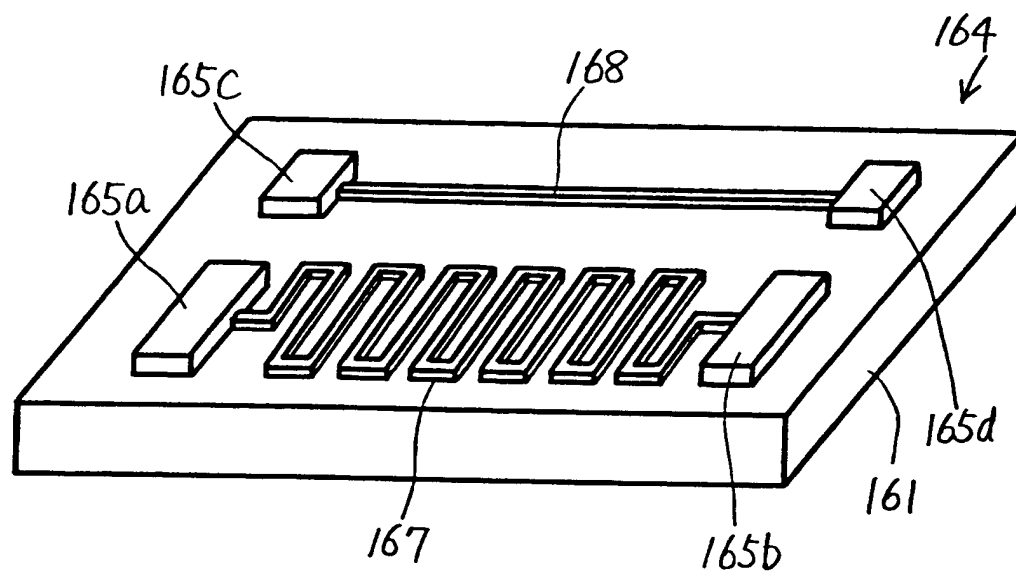




FIG.49A

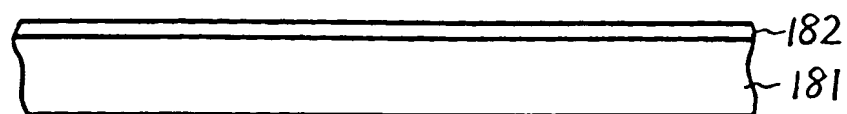


FIG.49B

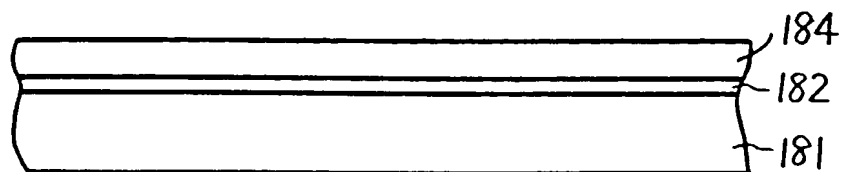


FIG.49C



FIG.49D

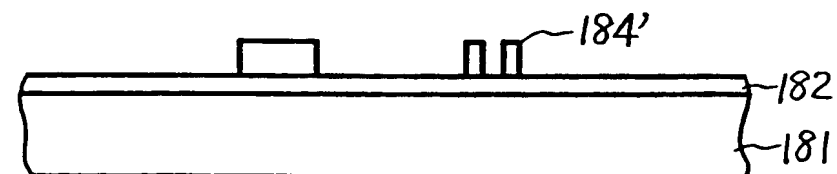


FIG.49E

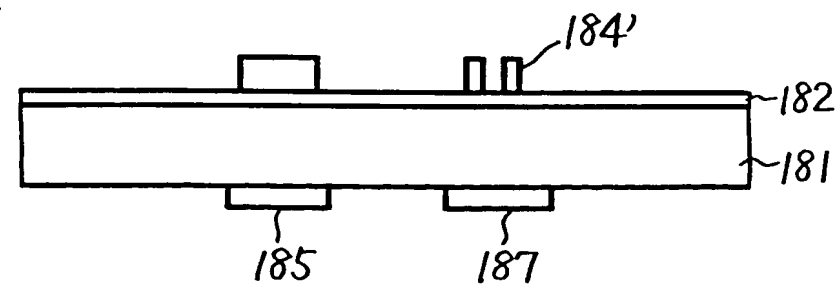




FIG.50A

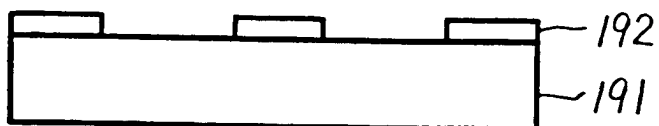


FIG.50B

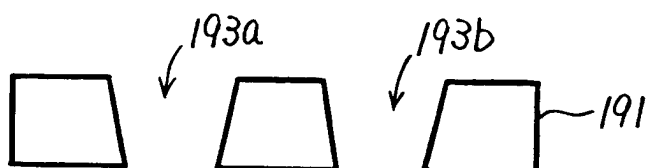


FIG.50C

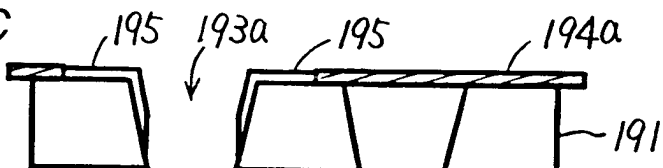


FIG.50D

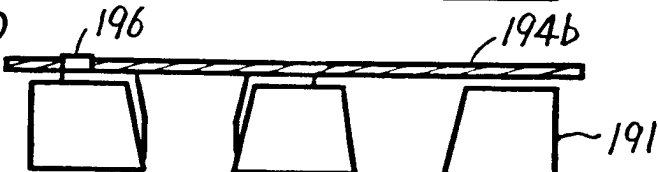


FIG.50E



FIG.50F

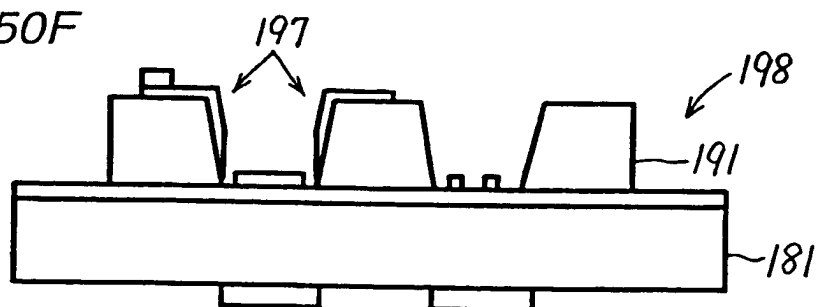




FIG.51

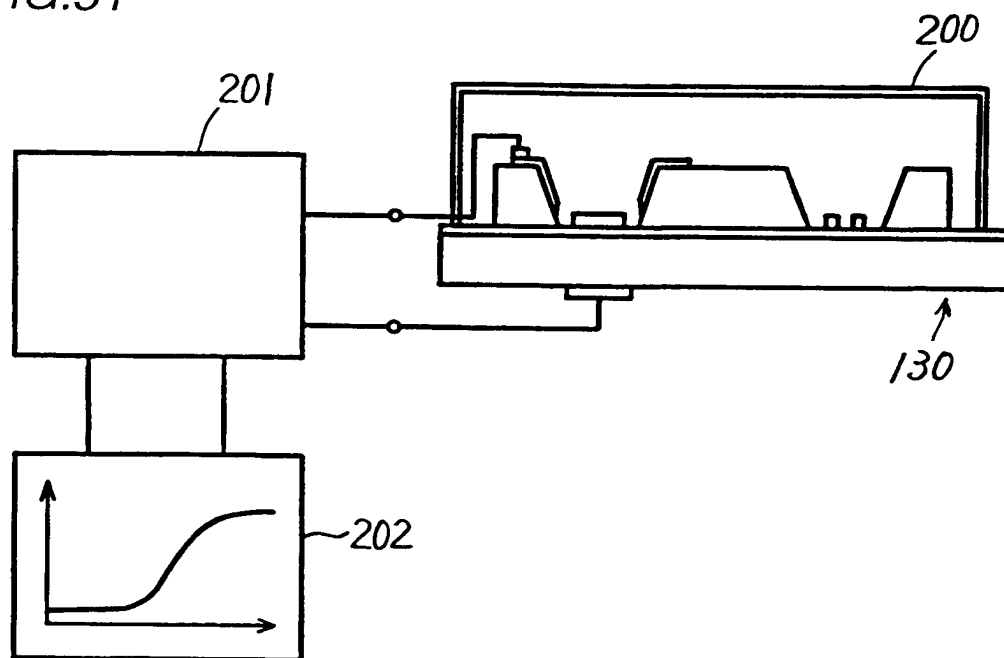


FIG.52

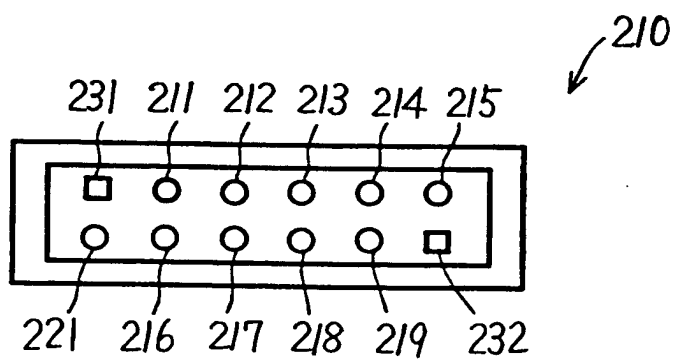




FIG.53A

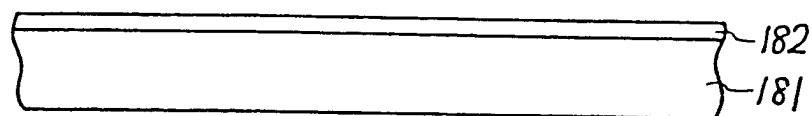


FIG.53B

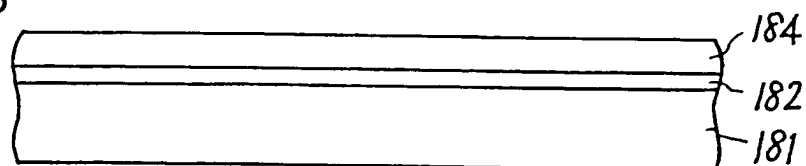


FIG.53C

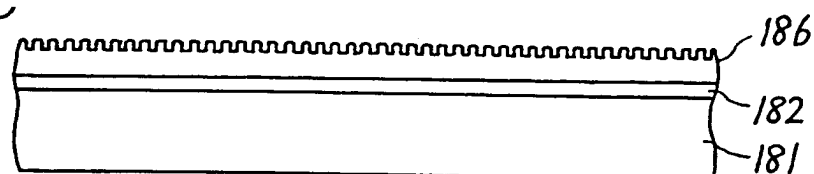


FIG.53D

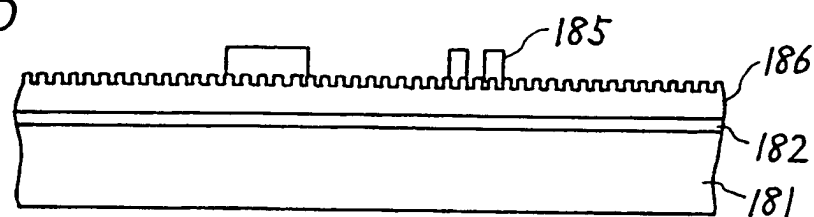


FIG.53E

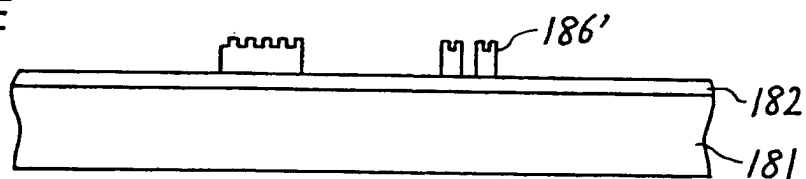


FIG.53F

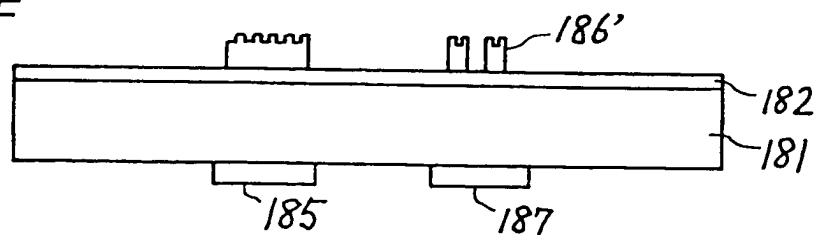




FIG.54A

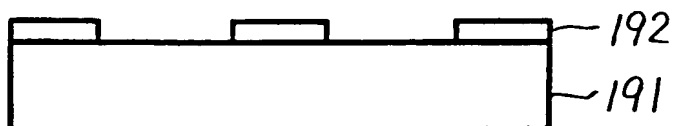


FIG.54B

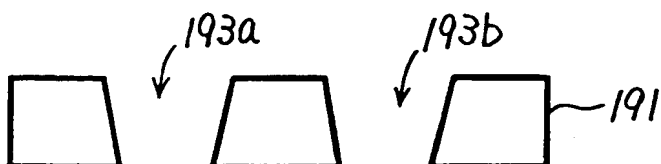


FIG.54C

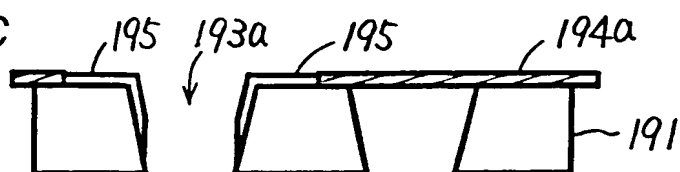


FIG.54D

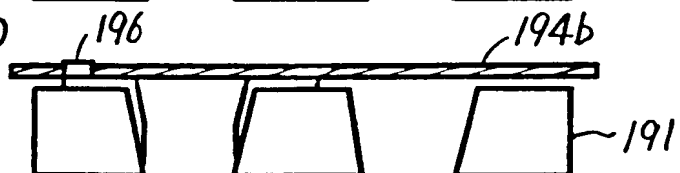
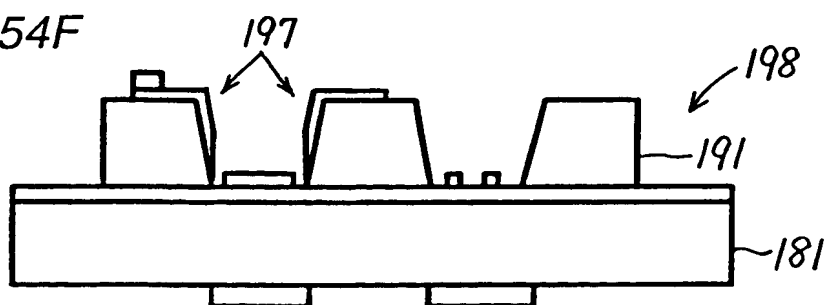


FIG.54E



FIG.54F





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/03820

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C30B29/54

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C30B1/00-35/00, B01D9/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2000
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2000	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE
JICST FILE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	A. Sanjoh et al., "Spatiotemporal protein crystal growth studies using microfluidic silicon devices", Journal of Crystal Growth, Vol. 196 (Jan. 1999), pp. 691-702 especially, page 696, left column, line 13 to page 697, right column, line 31; Fig.3	1-59
A	WO, 99/23284, A1 (Sumitomo Metal Industries, Ltd.), 14 May, 1999 (14.05.99) & JP, 11-130600, A	1-59

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 September, 2000 (04.09.00)Date of mailing of the international search report
12 September, 2000 (12.09.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. C30B29/54

B. 調査を行った分野
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. C30B1/00-35/00, B01D9/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの
日本国実用新案公報 1926-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-2000年
日本国登録実用新案公報 1994-2000年
日本国実用新案登録公報 1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CAS ONLINE
JICST科学技術文献ファイル

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	A. Sanjoh et al., "Spatiotemporal protein crystal growth studies using microfluidic silicon devices", Journal of Crystal Growth, Vol. 196 (Jan. 1999), pp. 691-702 特に、第696頁左欄第13行～第697頁右欄第31行、Fig. 3参照	1-59
A	WO, 99/23284, A1 (Sumitomo Metal Industries, Ltd.), 14.5月.1999 (14.05.99) & JP, 11-130600, A	1-59

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.09.00

国際調査報告の発送日

12.09.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

五十 棲 毅 印

4G

9440

電話番号 03-3581-1101 内線 3416



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 22 January 2001 (22.01.01)	
International application No. PCT/JP00/03820	Applicant's or agent's file reference 900135
International filing date (day/month/year) 12 June 2000 (12.06.00)	Priority date (day/month/year) 14 June 1999 (14.06.99)
Applicant AKIOKA, Koji et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

20 November 2000 (20.11.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Kiwa Mpay

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

47
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 900135	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/03820	International filing date (<i>day month year</i>) 12 June 2000 (12.06.00)	Priority date (<i>day month year</i>) 14 June 1999 (14.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C30B 29/54		
Applicant SUMITOMO METAL INDUSTRIES, LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

 These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 20 November 2000 (20.11.00)	Date of completion of this report 09 February 2001 (09.02.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/03820

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/03820

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-59	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-59	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-59	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: A. Sanjoh et al., "Spatiotemporal protein crystal growth studies using microfluidic silicon devices," Journal of Crystal Growth, Vol. 196 (Jan. 1999), pp. 691-702

Document 2: WO, 99/223284, A1 (Sumitomo Metal Industries, Ltd.), 14 May 1999

(Concerning claims 1 to 59)

The inventions described in claims 1 to 59 involve both novelty and an inventive step with respect to documents 1 and 2, cited in the ISR.

Documents 1 and 2 do not describe the idea of providing a separating device with a plurality of different types of material and one skilled in the art could not have easily conceived such an idea based on the subject matter of documents 1 and 2.

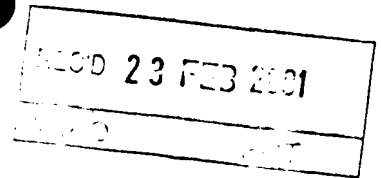


PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 900135	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JPO0/03820	国際出願日 (日.月.年) 12.06.00	優先日 (日.月.年) 14.06.99	
国際特許分類(IPC) Int. Cl. C30B29/54			
出願人(氏名又は名称) 住友金属工業株式会社			

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 20.11.00	国際予備審査報告を作成した日 09.02.01		
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 五十 棲 毅	4G	9440
電話番号 03-3581-1101		内線	3416



I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ、図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ、図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-59 有
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-59 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-59 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: A. Sanjoh et al., "Spatiotemporal protein crystal growth studies using microfluidic silicon devices", Journal of Crystal Growth, Vol. 196(Jan. 1999), pp. 691-702

文献2: WO, 99/23284, A1(Sumitomo Metal Industries, Ltd.), 14.5月.1999

(請求の範囲1-59について)

請求の範囲1-59に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1、2に対して新規性および進歩性を有する。

文献1、2には、分離装置に異なる複数種の材料を備えることが記載されておらず、しかもその点は文献1、2の記載内容から当業者といえども容易に想到し得ないものである。



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 900135	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/03820	国際出願日 (日.月.年) 12.06.00	優先日 (日.月.年) 14.06.99
出願人(氏名又は名称) 住友金属工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 3 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C30B29/54

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C30B1/00-35/00, B01D9/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2000年
日本国登録実用新案公報	1994-2000年
日本国実用新案登録公報	1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

JICST科学技術文献ファイル

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	A. Sanjoh et al., "Spatiotemporal protein crystal growth studies using microfluidic silicon devices", Journal of Crystal Growth, Vol. 196 (Jan. 1999), pp. 691-702 特に、第696頁左欄第13行~第697頁右欄第31行、Fig. 3参照	1-59
A	WO, 99/23284, A1 (Sumitomo Metal Industries, Ltd.), 14.5月.1999 (14.05.99) & JP, 11-130600, A	1-59

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.09.00

国際調査報告の発送日

12.09.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

五十 棧 毅

印

4G

9440

電話番号 03-3581-1101 内線 3416

